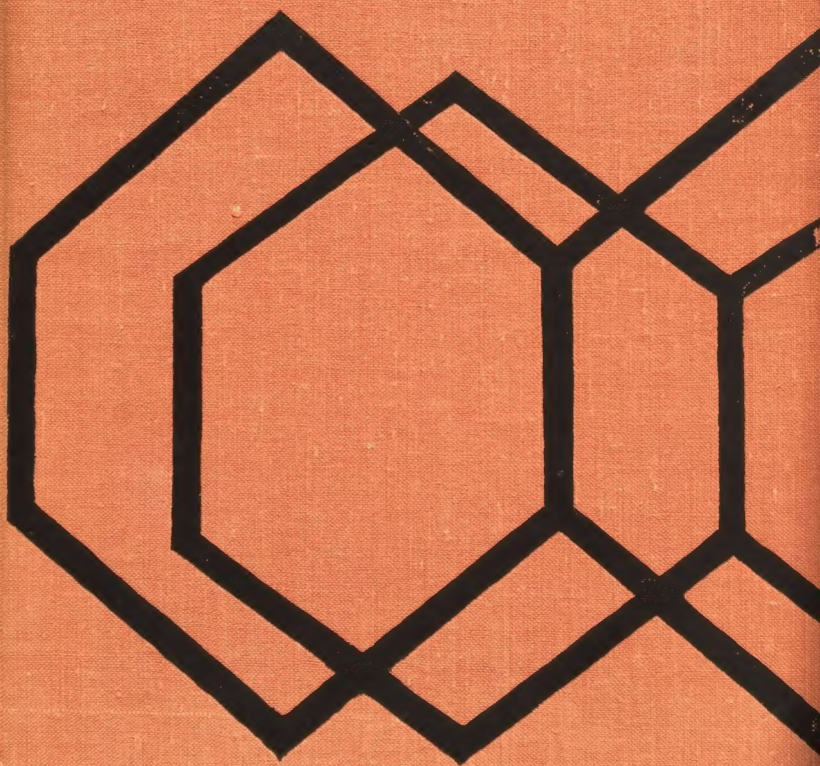


Э.Альберт

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ







# SELECTIVE TOXICITY

## and related topics

Fourth edition

ADRIEN ALBERT

D.Sc. (Lond.), Ph.D. Medicine (Lond.), F.R.I.C.

Fellow of the Australian Academy of Science  
Head of Department of Medical Chemistry in the  
John Curtin School of Medical Research,  
Australian National University, Canberra

METHUEN AND CO LTD

London 1968

Э. Альберт

## ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

Перевод с английского Р. С. Карлинской и Э. М. Познанской

Под редакцией и с предисловием чл.-корр. АМН СССР  
Н. В. Хромова-Борисова  
и д-ра биол. наук В. А. Филова

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» МОСКВА 1971

Книга посвящена избирательно действующим токсичным соединениям, т. е. таким веществам, которые поражают лишь определенные типы клеток и не действуют на другие клетки, даже находящиеся с ними в непосредственном контакте. Некоторые из этих веществ вызывают стойкие повреждения, действуя по принципу «все или ничего», действие же других отчетливо зависит от дозы и является обратимым. Таким образом, в книге рассмотрен очень широкий круг веществ: большая часть лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний человека и домашних животных, фунгициды, инсектициды, гербициды. Большое внимание уделено анализу механизмов их действия на молекулярном уровне.

Предназначена для медиков, фармакологов, токсикологов, химиков, биологов различных специальностей (биохимиков, микробиологов, энтомологов, цитологов, паразитологов и др.), для работников сельского хозяйства (ветеринаров, агрономов, специалистов по защите растений и др.).

*Редакция биологической литературы*

2-10-2

110-71

Э. Альберт

# ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

Редактор Е. Казакевич. Художник А. В. Шипов. Художественный редактор Ю. Л. Максимов  
Технический редактор З. И. Резник. Корректор А. Я. Шехтер

Сдано в набор 21/IV 1971 г. Подписано к печати 9/XI 1971 г. Бумага кн. журн. 70×108/16=13,5 6. л.  
37,8 усл. печ. л. Уч.-изд. л. 38,39. Изд. № 4/5897. Цена 3 р. 35 к. Зак. 960

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» Москва, 1-й Рижский пер., 2

Московская типография № 16 Главполиграфпрома Комитета по печати  
при Совете Министров СССР. Москва, Трехпрудный пер., 9



### Опечатки

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
294	35 снизу	0,002 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	0,002 ч. на млн
294	37 снизу	0,01 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	0,01 ч. на млн

Зак. 960

## Оглавление

Предисловие к русскому изданию . . . . .	5
Предисловие автора к русскому изданию . . . . .	6
Предисловие автора к английскому изданию . . . . .	7

### Часть первая. Общие проблемы

<b>Глава 1.</b> Токсичность на службе человека . . . . .	13
Что такое «избирательная токсичность»? . . . . .	13
1. Теоретические основы избирательности . . . . .	17
2. Избирательность за счет различий в распределении . . . . .	20
3. Цитологические различия как основа избирательности . . . . .	22
4. Биохимические различия как основа избирательности . . . . .	37
5. Заключение . . . . .	65
<b>Глава 2.</b> Всасывание, распределение в организме и выведение . . . . .	66
Введение . . . . .	66
1. Концепция рецепторов . . . . .	68
2. Проницаемость природных мембран . . . . .	70
3. «Места потерь» и синергизм . . . . .	80
4. Превращения веществ, предшествующие их действию . . . . .	88
5. Обратимость взаимодействия с рецепторами . . . . .	94
6. Количественные аспекты распределения . . . . .	95
<b>Глава 3.</b> Химиотерапия; история и основные принципы . . . . .	98
Введение и исторический обзор . . . . .	98
1. Вклад Эрлиха в химиотерапию . . . . .	99
2. Химиотерапевтические средства, существовавшие до 1935 г. . . . .	103
3. 1935-й и последующие годы . . . . .	107
4. История изыскания инсектицидов и средств защиты урожая . . . . .	114
5. Устойчивость к лекарственным веществам и другим агентам . . . . .	120
6. Терапевтическая интерференция . . . . .	127
<b>Глава 4.</b> Фармакодинамика . . . . .	130
Введение. Сравнительная характеристика фармакодинамики и химиотерапии . . . . .	130
1. История развития исследований по изысканию новых синтетических лекарственных средств . . . . .	131
2. Значение количественных оценок . . . . .	132
3. Гипотезы механизма действия лекарственных препаратов . . . . .	134
4. Некоторые общие особенности молекулярной структуры фармакодинамических лекарственных средств . . . . .	144
5. Модификация природных соединений с целью получения более простых производных . . . . .	147
6. Классификация фармакодинамических агентов . . . . .	153

### Часть вторая. Связь между структурой и биологической активностью

<b>Глава 5.</b> Химические основы избирательности. Природа связей. Адсорбция . . . . .	161
Введение . . . . .	161
1. Типы химической связи . . . . .	162
2. Адсорбция . . . . .	166
3. Некоторые небιологические примеры химической специфичности . . . . .	169
4. Эксперименты, иллюстрирующие явления избирательной адсорбции . . . . .	171
<b>Глава 6.</b> Метаболиты, антиметаболиты и ферменты . . . . .	173
Введение . . . . .	173
1. Аналоги метаболитов; определение, способы получения и механизм действия . . . . .	176
2. К истории изучения антиметаболитов до 1940 г. . . . .	183
3. Сульфамидные препараты и другие антагонисты фолиевой кислоты . . . . .	184
4. Другие аналоги метаболитов, обладающие выраженной избирательной токсичностью . . . . .	194
5. Последовательное блокирование . . . . .	201
6. Аналоги метаболитов, образующие ковалентные связи . . . . .	202

7. Антагонисты метаболитов, которые не являются их аналогами.	203
8. Фармакогенетика	204
<b>Глава 7. Влияние метильных групп на биологическое действие</b>	205
Введение	205
1. Влияние стерических факторов	205
2. Электронные влияния	211
<b>Глава 8. Ионизация</b>	216
Введение	216
1. Природа ионизации	216
2. Различия в степени ионизации и избирательное действие	223
3. Вещества, обладающие большей биологической активностью в ионизованном состоянии	228
4. Вещества, менее активные в ионизованном состоянии	247
5. Вещества, в биологическом действии которых принимают участие и ионы, и молекулы	249
6. Ионизация рецепторов	254
7. Заключение	255
<b>Глава 9. Вещества, связывающие металлы</b>	257
Введение	257
1. Металлы в живой клетке	257
2. Биохимические различия, способствующие избирательности	264
3. Химизм хелатообразования	268
4. Химические различия, способствующие избирательности	276
5. Различные механизмы биологического действия хелатообразующих агентов (введение)	280
6. Уменьшение токсического действия металла в результате хелатообразования	282
7. Усиление токсического эффекта металла в результате хелатообразования	284
8. Хелатообразующие вещества, биологическое действие которых обусловлено не только хелатообразованием	294
9. Основные принципы изыскания новых хелатообразующих соединений. Перспективные области применения	301
<b>Глава 10. Ковалентная связь и избирательная токсичность</b>	303
Введение	303
1. Производные мышьяка, сурьмы и ртути	303
2. Пенициллин и другие соединения с тем же типом действия	308
3. Органические фосфаты и карбаматы	315
4. Алкилирующие агенты	320
5. Летальный синтез и детальное включение	324
6. Разные примеры	328
<b>Глава 11. Стерические факторы</b>	329
Введение	329
1. Оптическая изомерия	331
2. Геометрическая изомерия	334
3. Конформация	336
4. Лекарственные вещества и их рецепторы	338
5. Заключение	356
<b>Глава 12. Химия поверхностных явлений. Изменения в мембранах под действием химических агентов</b>	357
Введение	357
1. Поверхностные явления и биологическая активность	358
2. Повреждение мембран биологически активными агентами	360
<b>Глава 13. Свободные радикалы</b>	365
Введение	365
1. Свободные радикалы и избирательно токсичные агенты	366
<b>Глава 14. Биологическая активность, не связанная со структурой. Принцип Фергюсона</b>	370
Введение	370
1. Биологические депрессанты (снотворные и наркотические средства, летучие инсектициды)	370
2. Соединения, нарушающие нормальный ход митоза	381
3. Порошкообразные вещества, обладающие сорбтивными свойствами	381
<b>Литература</b>	391
<b>Предметный указатель</b>	420



## Предисловие к русскому изданию

Первое издание книги Э. Альберта «Избирательная токсичность», вышедшее в свет в 1951 г., было переведено на русский язык в 1953 г. Оно вызвало большой интерес ученых, работающих в области целого ряда биологических наук (биология, медицина, биохимия, фармакология, токсикология и др.).

Второе и третье издания (1960 г. и 1965 г.) на русский язык не переводились. Четвертое издание, вышедшее в 1968 г., по своему объему весьма существенно — более чем вдвое — превышает первое, а список литературы возрос почти в пять раз.

Автор в своей книге отнюдь не ограничивается вопросами токсикологии. Здесь рассмотрены самые разнообразные реакции биологически активных соединений, в результате которых изменяется нормальное течение биологических процессов в организме животных, растений и микробов. Механизмы этих реакций анализируются на молекулярном уровне, причем избирательность реакций объясняется с позиций современной структурной химии. Для того чтобы облегчить читателю понимание этих объяснений, автор достаточно подробно излагает суть различных типов химической связи, основные положения стереохимии, химической кинетики и некоторых других разделов физической химии.

Это, на наш взгляд, необходимо, так как тема книги в равной мере интересна медику и фармакологу, токсикологу и агрохимику и, конечно, биохимику и химику-органику, занимающимся биологически активными соединениями.

Редакторы сочли полезным сделать несколько примечаний со ссылками на новые литературные источники, появившиеся за последние годы. При этом мы не ставили себе цели включить в книгу всю новую литературу, а ограничились лишь указанием работ по некоторым вопросам, получившим достаточно развитие и отраженным преимущественно в советской научной печати. Кроме того, для того чтобы читателю было легче разобраться в названиях лекарственных средств (речь идет о многочисленных фирменных названиях), к русскому изданию приложен перечень используемых в книге названий (стр. 389) с указанием их синонимов, принятых в нашей литературе.

*В. А. Филос,  
Н. В. Хромов-Борисов*

## Предисловие автора к русскому изданию

Я чрезвычайно рад, что 4-е издание моей книги «Избирательная токсичность» переведено на русский язык. Наличие полноценного перевода, подобного этому, означает, что книга станет доступной для новой многочисленной группы исследователей. Тема книги, надо думать, заинтересует многих из новых ее читателей; по существу, эту тему можно сформулировать как «физические и химические основы действия лекарственных веществ».

Весьма знаменательно и то, что перевод книги осуществлен в Ленинграде — городе, в котором Романовский в 1891 г. впервые обнаружил биологическое явление избирательной токсичности, показав, что лечебное действие хинина при малярии обусловлено тем, что он повреждает паразита в большей степени, чем хозяина. Эти данные приведены во введении к гл. 3 настоящей книги.

В заключение я хочу выразить мою искреннюю благодарность редакторам за их кропотливый и вдохновенный труд по подготовке текста к изданию на русском языке.

*Э. Альберт*

## Предисловие автора к английскому изданию

Эта книга — об избирательно действующих токсических агентах, т. е. веществах, способных повреждать определенные клетки, не затрагивая при этом другие, даже если оба вида клеток находятся в непосредственном контакте друг с другом. Некоторые агенты избирательного действия вызывают необратимые повреждения в клетках, но существуют и такие агенты, которые обладают градуальным и обратимым действием. Таким образом, предмет обсуждения охватывает огромный круг вопросов. Сюда относятся преобладающее большинство лекарственных веществ, применяемых для лечения человека и домашних животных, а также все фунгициды, инсектициды и гербициды, используемые в сельском хозяйстве.

Как еще 20 лет назад писал Гольдштейн, после Эрлиха и Кларка, так много сделавших для раскрытия механизма действия лекарственных веществ, объектом исследования становится уже не целостный организм, а клетка. В настоящее время благодаря успехам химии белков и нуклеиновых кислот, а также микробиологии и электронной микроскопии структура клетки представляется нам громоздкой и сложной. В фармакологической практике теперь оперируют ангстремами. Для решения стоящих перед фармакологом задач он должен исследовать действие молекул лекарственных веществ на сравнительно короткие цепи атомов в компонентах клетки. Таким образом, можно сказать, что эта книга посвящена рассмотрению физических и химических механизмов, лежащих в основе избирательной токсичности.

Всякое ли действие лекарственных веществ можно рассматривать как токсическое? Разумеется, нет. Очень многие лекарственные вещества применяются для заместительной терапии. Так, витамины, соли и гормоны в большинстве случаев назначают при нарушениях обмена веществ, связанных с недостаточностью в организме этих компонентов. Значительно труднее классифицировать лекарственные соединения, представляющие собой аналоги нейrogормонов, например ацетилхолина и норадреналина, которые имитируют действие этих нейrogормонов в определенных органах или тканях. Решение вопроса о том, в каких случаях эти аналоги следует относить к токсическим соединениям, зависит от способа их действия. Совершенно очевидно, что в тех случаях, когда они ингибируют фермент, в норме разрушающий избыток нейrogормона, их следует рассматривать как токсические агенты. Лекарственные вещества-антагонисты нейrogормонов или других компонентов живой клетки также относятся к токсическим агентам. Обычное нарушение метаболизма в клетке, вызываемое этими лекарственными веществами, является временным и очень благоприятным для больного. И все же это не что иное, как проявление токсичности. Лекарственные вещества не могут служить для организма источниками энергии. Эти функции выполняет пища. Однако лекарственные вещества способствуют восстановлению нормального течения и ритма нарушенных метаболических процессов, а следовательно, обеспечивают возможность более эффективного использования энергии, источником которой служит пища.

Совершенно очевидно, что средства для общего наркоза, а также снотворные и местноанестезирующие средства используются в медицинской практике именно в качестве токсических агентов. К этому же типу соединений относятся спиртные напитки, которые называют «возбуждающими», хотя на самом деле их действие состоит в *подавлении* активности высших центров



торможения. В настоящее время известно, что так называемый стимулирующий эффект стрихнина является следствием его токсического действия на нормальный центр торможения в спинном мозгу. Воздействие на бактерии, циркулирующие в крови хозяина, а также другие формы химиотерапии представляют собой типичные случаи использования токсического действия (на возбудителей и паразитов). Это в полной мере справедливо также для инсектицидов и гербицидов.

Все сказанное до сих пор относилось к благоприятным для человека токсическим эффектам. Нельзя, однако, забывать о возможности нежелательных токсических эффектов. В ноябре 1961 г. проф. В. Ленс опубликовал работу, в которой указал на связь между появлением на свет младенцев с врожденными аномалиями и талидомидом, который их матери принимали в первые месяцы беременности. К настоящему времени страсти, вызванные этим событием и последовавшими за ним открытиями, улеглись, и мы можем беспристрастно оценить всю серьезность проблемы отдаленных последствий применения токсических лекарственных препаратов. Во многих странах были приняты новые правила, регламентирующие введение в практику лекарственных препаратов лишь после тщательной проверки для выявления возможного побочного действия. Введены были также правила, ограничивающие распространение наиболее токсичных хлорированных инсектицидов (например, алдрина).

В тех случаях когда подобные ограничения имеют веское научное обоснование, они не вызывают никаких возражений. Надо полагать, что взамен каждого вещества, обнаруживающего нежелательное побочное действие, можно найти по меньшей мере одно, лишенное этого недостатка. А если новые правила приведут к тому, что ежегодно в практику будет вводиться меньшее число лекарственных препаратов, то это даст хотя бы то преимущество, что врачи научатся более эффективно использовать уже существующие препараты. Как известно, отсутствие данных о судьбе сальварсана в человеческом организме привело к тому, что долгие годы (1910—1934 гг.) при лечении этим препаратом в организм больных вводились излишне большие дозы мышьяка (см. гл. 10, разд. 1).

Однако требование проводить испытания на большом числе видов животных нельзя считать рациональным. Подобные ограничения могут лишь повести к тому, что открытие каждого пригодного для лечения людей лекарственного средства практически отодвинется на неопределенный срок. После того как в результате экспериментов, проведенных на двух видах лабораторных животных, удалось выяснить, что найдено безопасное и перспективное вещество, всю дальнейшую необходимую информацию можно получить лишь после испытаний на людях. Многие вещества, обещавшие, судя по результатам экспериментов на животных, стать специфичными и высокоактивными лекарственными препаратами, оказывались потом по целому ряду причин непригодными для клиники. Либо их действие на организм человека было очень кратковременным, либо они не всасывались из кишечника, либо, наконец, они имели серьезное побочное действие, которое в эксперименте на животных не обнаруживалось. И наоборот, весьма часты случаи, когда вещество, отобранное из целой группы новых соединений как оптимальное для применения в клинике, вовсе не было лучшим при испытаниях на лабораторных животных.

Шесть хорошо известных и широко применяемых в клинике лекарственных препаратов с различным фармакологическим действием проверялись в течение нескольких месяцев на собаках и крысах с целью выявить возможные токсические побочные эффекты. Результаты этого исследования сравнивались с клиническими показателями (каждый препарат испытывался на 500 больных). Оказалось, что из 53 наблюдавшихся в клинике видов фармакологического действия этих лекарственных веществ только 18, т. е. 34%

были предсказаны правильно на основании опытов на крысах. Даже в опытах на собаках этот процент не превышал 53.

Из этого следует, что нельзя слишком полагаться на результаты, полученные в опытах на животных, при подготовке к испытанию возможных лекарственных средств в клинике. Клинические испытания обязательны [917].

Летом 1966 г. президент США в своем традиционном выступлении, посвященном опубликованию программы по медицинскому обслуживанию населения, сказал, что ни одно из открытий, которые могут способствовать спасению человеческих жизней, не должно застревать в стенах лабораторий и оставаться неиспользованным. Становится все более очевидным, что пришла пора сократить путь лекарственного вещества от исследовательской лаборатории до больного. Самым целесообразным было бы лучшее использование существующих в настоящее время клинико-фармакологических отделений, с тем чтобы *первое* данные о действии нового лекарства получать на добровольцах. Опыт показал, что при испытании на разных видах зависимость между дозой и активностью оказывается весьма различной, тогда как между дозой и уровнем лекарственного вещества в крови отмечается хорошая корреляция. Таким образом, самой первой задачей таких отделений могло бы быть установление дозы, обеспечивающей тот же уровень лекарственного вещества в крови человека, при котором был получен лечебный эффект на животных. На основании кинетических данных, полученных после того как были проделаны все необходимые анализы крови и мочи (см. гл. 2, разд. 6), можно рассчитать эффективную и притом безопасную дозу лекарственного вещества.

Следующим этапом могли бы стать испытания на добровольцах, специально для этой цели отобранных, при условии, что испытываемое соединение безоговорочно может быть отнесено к числу более перспективных, чем все остальные, уже существующие. При этом обязательно используются такие общепринятые при испытаниях на людях приемы, как использование плацебо и перекрестные тесты. Если эти эксперименты хотя бы в малейшей степени угрожают здоровью людей, необходимо честно взвесить все за и против, прежде чем их продолжать. Когда испытание нового лекарственного вещества сопряжено с известным риском, целесообразно для получения дополнительной информации использовать данные, полученные на патолого-анатомическом материале, тканях, удаленных (в результате биопсии или хирургического вмешательства) прижизненно, или на культуре ткани. Но в общем испытания на людях играют крайне важную роль. Эти испытания должны проводиться в строгом соответствии с этическими нормами, установленными декларацией, принятой в Хельсинки в 1964 г. (Всемирная организация здравоохранения).

В области клинической фармакологии уже накоплен значительный опыт в этом отношении. Так, например, все, что в настоящее время известно о применении противомаларийных средств в смысле выбора надлежащего лекарственного препарата и оптимальных методов лечения, явилось (после предварительных опытов на птицах, инфицированных маларийным плазмодием) исключительно результатом исследований, проведенных на добровольцах, зараженных маларией (разумеется, в строго контролируемых условиях).

Классическим в этом смысле, да и вообще одним из самых выдающихся в области химиотерапии является эксперимент, проведенный Фейрли и его сотрудниками в Австралии в 1943—1945 гг. Добровольцам (1000 здоровых людей) ежедневно в течение трех недель вводили маларийный плазмодий. В дальнейшем из них была выделена контрольная группа, не получавшая никакого лечения. Остальным лекарственные препараты вводили через различные после заражения сроки, с тем чтобы выяснить, как они действуют на паразита на разных стадиях его развития. Критерием выздоровления служил тот факт, что кровь излеченных добровольцев, перелитая здоровым

людям, не вызывала у них заболевания малярией. После окончания экспериментов этих здоровых добровольцев для контроля заражали малярией, с тем чтобы доказать их восприимчивость к этой инфекции. В результате были выработаны оптимальные схемы лечения малярии мефакрином (атетбрином), хлорохином и прогванилом [496, 497].

Можно привести и другие, весьма многочисленные примеры, свидетельствующие о целесообразности своевременного перенесения испытаний с экспериментальных животных на людей.

Бывает и так, что испытания на людях являются единственно возможными. Это, в частности, относится к лекарственным препаратам, применяемым для лечения психических заболеваний, действие которых бессмысленно проверять на животных.

Новое лекарственное средство нельзя выпускать до того, как клинико-фармакологическое исследование будет полностью закончено и действие лекарственного вещества прослежено на протяжении нескольких месяцев, с тем чтобы выявить возможное отдаленное побочное действие. Следует иметь в виду, что даже соблюдение всех этих условий полной гарантии дать не может; некоторый (пусть небольшой) элемент риска все же остается. Однако с этим приходится мириться, ибо иначе прогресс невозможен. Р. Дюбо в своей недавно вышедшей книге «Человек приспосабливается» отмечает, что не существует такого лекарственного средства, которое было бы безопасным для всех без исключения людей. Однако при условии, что лекарственное вещество обладает определенными ценными качествами, его появление следует расценивать как фактор благоприятный, если можно рассчитывать, что при его применении пострадает не более десяти, скажем, из миллиона больных. Это можно назвать разумным риском. Такой подход уже давно является общепринятым в медицине. В частности, вакцинация против оспы считается обязательной, хотя определенный (правда, очень небольшой) процент смертности неизбежен. Такой же элемент риска существует и при проведении хирургических операций.

Избирательная токсичность — сложная проблема, и некоторые исследователи считают, что попытки установить в этой области какие-то основные принципы преждевременны. Не следует, однако, забывать, что сложность — непрменный атрибут всех биологических проблем, но что до сих пор это обстоятельство отнюдь не служило препятствием к раскрытию основных закономерностей в этой области.

Самым целесообразным подходом к проблемам, связанным с действием биологически активных веществ, можно считать *определение лимитирующего фактора*. Это означает, что исследуется зависимость активности от изменения какого-либо одного свойства препарата. Однако, естественно, прежде всего нужно определить разнообразные физические, химические и биохимические свойства активных соединений. (Следует попутно отметить, что эти, пусть элементарные, задачи требуют серьезнейшего творческого подхода, иначе из-за недостатка сведений о тех характеристиках, которые могли бы оказаться интересными с биологической точки зрения, замедляются дальнейшие этапы исследования.)

Следующий этап исследований состоит в том, что каждое из известных свойств данного вещества рассматривается как определяющее в его биологическом действии. При этом эксперимент ставится таким образом, что каждое из этих свойств, по очереди, исследуется так, как если бы оно именно и было лимитирующим фактором. В таком эксперименте испытывают только одно вещество, но условия опыта многократно варьируют так, чтобы менялась степень выраженности изучаемого свойства (величина лимитирующего фактора). Одновременно определяют изменение биологической активности. Помимо этих экспериментов ставят и другие, в которых условия опыта остаются постоянными, но вместо одного какого-то вещества используется



несколько веществ, отличающихся от интересующего исследователя соединения по всем свойствам, кроме того единственного, которое и служит объектом данного эксперимента. Примеры использования этого подхода приведены в данной книге, например в гл. 8, там, где речь идет об аминаокридинах.

\* \* \*

Новое издание книги построено так же, как и предыдущее, третье издание. Книга содержит четыре главы, представляющие общий интерес и особенно важные для тех, кто впервые сталкивается с этой проблемой, и десять глав более специальных, предназначенных для более подготовленного читателя. Быстрые темпы развития науки побудили автора включить в настоящее издание книги новый материал (рассматриваемый в основном в главах 1, 6 и 10), связанный с проблемами сравнительной биохимии, молекулярной биологии, механизма действия антибиотиков на биохимическом и химическом уровне, индукции ферментов под действием лекарственных веществ, фармакогенетики; приводятся также новые данные о противовирусных препаратах. Своевременным представляется и включение в книгу новой главы о свободных радикалах.

Список литературы пополнен 500 ссылками. Раздел, посвященный рецепторам (гл. 2), написан заново; раздел, в котором речь идет о явлениях синергизма, в значительной степени переработан. Приведены также дополнительные сведения о латентных и маскировочных свойствах лекарственных веществ. В расширенном виде изложен материал о количественных аспектах распределения. В гл. 3 включены новые данные о резистентности к лекарственным веществам, а также дополнительные весьма важные сведения об инсектицидах, гербицидах и фунгицидах. В гл. 4 рассмотрены новые гипотезы механизма действия лекарственных веществ, а также явления, связанные с электрической и химической возбудимостью мембран. В гл. 5 более подробно, чем прежде, обсуждается природа химической связи. В гл. 6 включено введение в химию ферментов, которое содержит данные о кинетике, третичных структурах и топографии активных центров. Анализируются также причины успешного использования аналогов метаболитов в качестве лекарственных средств и в сельском хозяйстве.

Гл. 8 и 9 (ионизация и хелатообразование) пересмотрены с использованием многочисленных новых литературных данных. Приведен, кроме того, обзор реакций органических катионов с нуклеиновыми кислотами, а также критическое изложение современных взглядов на интеркаляцию. Разделы, посвященные вопросам о роли металлов в жизнедеятельности клетки, расширены, в частности, в них включены новые сведения о легких металлах. Стереохимия (гл. 11) изложена более подробно. Кроме того, в эту главу введено обсуждение вопроса об  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренергических рецепторах. В этом издании приводится также более полная информация о поверхностных физико-химических явлениях (гл. 12), которая дополнена многочисленными новыми примерами, иллюстрирующими действие новейших лекарственных препаратов. В гл. 14 содержится значительно больше сведений о наркотическом действии инертных газов. Кроме того, критически рассмотрена гипотеза о роли упорядоченной структуры воды в механизме действия анестезирующих средств. В приложении количественно охарактеризовано влияние заместителей, так что теперь возможно дать приближенную количественную оценку липофильных и электроноакцепторных свойств молекул какого-либо неизвестного вещества еще до того, как произведены соответствующие измерения.

Весь материал, собранный в книге, скомпонован так, чтобы облегчить процесс его усвоения; для этого современным данным по избирательной токсичности автор постарался предпослать изложение основных физико-химических, биохимических и цитологических закономерностей.

Автор желал бы, чтобы эта книга могла служить пособием для студентов, специализирующихся в области медицинской или фармацевтической химии, при условии что они получили хорошую химическую подготовку. Автор надеется, что это издание, так же, как и предыдущее, окажется полезным пособием и для научных работников, интересующихся биологическими и химическими вопросами.

Рассчитывает автор и на то, что знание закономерностей, изложенных в книге, будет способствовать рациональному развитию исследований, направленных на изыскание новых избирательно действующих токсических агентов, которые будут создаваться либо на основе применения уже установленных принципов, либо путем улучшения уже известных препаратов, обнаруженных эмпирическим путем. И, наконец, последнее. Автор надеется, что приведенные в книге сведения о механизме действия лекарственных препаратов помогут врачам использовать их более эффективно.

*Э. Альберт*

## ОБЩИЕ ПРОБЛЕМЫ

---

### ГЛАВА 1

#### Токсичность на службе человека

##### *Что такое «избирательная токсичность»?*

Термин «избирательная токсичность» означает поражение под влиянием токсического агента одних типов живого вещества без того, чтобы были затронуты другие, даже находящиеся с первыми в непосредственном контакте. При этом речь может идти как об обратимых, так и о необратимых поражениях.

О живых веществах, на которые воздействуют токсическим агентом с целью вызвать их повреждение, принято говорить как о *вредных для человека*, о веществах же, которые должны остаться при этом незатронутыми, — как о *полезных*. В частном случае эти два типа вещества могут оказаться существами — организмами паразита и хозяина. В других случаях полезными и вредными могут быть клетки двух разных тканей одного и того же организма.

Действие наркотических средств очень хорошо помогает представить себе наглядно, что такое избирательная токсичность. Эти средства тем ценнее, чем они токсичнее, но при условии, что они действуют на центральную нервную систему избирательно и что это действие полностью обратимо. Успех Мортонa, применившего в 1846 г. эфир в качестве средства для наркоза, послужил убедительным доказательством существования избирательной токсичности как явления. Наркотики высоко токсичны для центральной нервной системы и лишь в ничтожной степени — для других тканей; при этом токсическое действие исчезает полностью и почти сразу же после прекращения дачи наркоза. Что касается противопаразитарных средств, то они, щадя организм хозяина, должны оказывать на паразитов предпочтительно *необратимое* токсическое действие.

В сельском хозяйстве давно возникла потребность в использовании принципа избирательной токсичности. Человек научился выращивать культурные растения, чтобы обеспечить себя пищей и одеждой. Однако семена растений, почва и сами растения постоянно заражаются различными грибами, сорняками, поражаются вредными насекомыми, что создает угрозу урожаям. Поэтому применение в сельском хозяйстве токсических агентов, позволяющих избавляться от множества самых разных видов вредных организмов без вреда для полезных, должно рассматриваться как достижение первостепенной важности.

Те же проблемы возникают и в области животноводства. Домашние животные заражаются всевозможными паразитами — как внутренними, так и наружными. Так же, как и в растениеводстве, в животноводстве ощу-

щается постоянная потребность в новых, улучшенных токсических веществах избирательного действия. *Химиотерапия* — так был назван раздел учения об избирательной токсичности, посвященный методам освобождения человека и домашних животных от паразитов.

Более сложными представляются случаи, когда вредные клетки составляют часть организма полезного вида. Таковы, например, случаи гипертрофии той или иной железы с нарушением равновесия в системе обмена веществ здорового организма или случаи перевозбуждения какой-либо области центральной нервной системы, сопровождающегося нарушением нормальных функций организма. При подобных патологических состояниях настоятельно ощущается потребность в избирательно токсических веществах. Соответствующий раздел учения об этих веществах носит название *фармакодинамики*. В целом задачи фармакодинамики более сложны, чем задачи химиотерапии, так как в фармакодинамике используются только такие токсические вещества, избирательное действие которых носит временный и ограниченный характер. Так, например, местное обезболивание является одним из величайших достижений в фармакологической практике, однако вряд ли его можно было бы расценивать как триумф науки, если бы потеря болевой чувствительности сохранялась у пациента на всю жизнь.

В предисловии указывалось, что не все препараты, используемые в клинике, относятся к категории токсических агентов. Многие из них — это витамины, минеральные соли и гормоны, которые применяются для восполнения недостатка этих веществ в организме. Однако в избыточных количествах и эти вещества могут оказаться токсичными. При этом токсичность не всегда является выражением побочного действия вещества; она может быть результатом усиления его основного действия. Так, избыток кальциферола (витамина D) вызывает обызвествление артерий и почек, а сильная передозировка витамина A иногда может вообще оказаться губительной для организма. Известны случаи гибели маленьких детей даже от малых доз сульфата железа. Небольшая передозировка питuitиновой вызывает повышение артериального давления, небольшой избыток тиреоидных гормонов — мышечный тремор, а в результате введения адреналина (например, перед экстракцией зуба) нередко возникают явления тахикардии. Стероидные гормоны часто применяют в очень больших, нефизиологических дозах (например, эстрогены и прогестерон в качестве противозачаточных средств и кортизон для лечения артрита и аллергических заболеваний). Хотя вопросы, связанные с заместительной терапией, в этой книге специально освещаться не будут, все же нельзя сказать, что они будут исключены полностью.

Основная тема книги — учение об избирательной токсичности по преимуществу в теоретическом, а не прикладном аспекте. Однако здесь будут затронуты и вопросы, связанные с применением принципа избирательной токсичности к решению практических задач, поскольку обсуждение теоретических вопросов должно непременно базироваться на проверенных данных. Тем не менее главное внимание все же уделено разбору теоретических основ явления избирательной токсичности ввиду того, что это позволит лучше понять причины возникновения избирательности вообще; кроме того, несомненно именно в этой области следует ожидать важных открытий, которые иначе, без изучения теории, никогда не будут сделаны.

Термин *агент* в нашем понимании будет означать токсический агент избирательного действия. Агенты, применяемые в медицине и ветеринарии, часто принято называть *лекарственными препаратами*. В принципе, однако, между этими двумя понятиями никакой разницы нет.

Другой подход к проблеме уничтожения вредных структур или вредных видов организмов — использование биологических методов. Можно вывести полезные виды со специальной целью создать более устойчивые к заболеваниям формы (этой же цели удастся иногда достигнуть, создавая

соответствующие условия выращивания). Кроме того, в ряде случаев удается обнаружить паразитов, специфически поражающих вредные виды. Для иллюстрации можно рассказать о том, как жуками *Cactoblastis* в Австралии был уничтожен в 1930 г. кактус, известный под названием опунция (эти жуки не поедают ничего, кроме опунции) и опустошавший пахотные земли на огромных площадях. Таким же образом удалось приостановить распространение хрущика японского (*Popillia japonica*), создавшего к 1916 г. серьезную угрозу урожаю на Атлантическом побережье США. В борьбе с этим жуком был использован один из видов паразитических ос (*Tiphia vernalis*), обитающих в Китае, а также бактерии (*Bacillus popilliae*). И те и другие оказались безвредными для земляных червей, птиц, млекопитающих и растений. С ощутимым успехом применяются и различные другие биологические методы борьбы (например, заражение кроликов миксоматозом). О полубиологических методах уничтожения насекомых (хемостерилизация, применение аттрактантов и веществ, уничтожающих аппетит у насекомых) см. [637].

Как правило, изыскание биологических методов борьбы сопряжено с большими затратами времени и денег, причем зачастую затраты вообще оказываются бесплодными. В то же время методы, основанные на избирательной токсичности, позволили решить многие проблемы, возникающие в связи с заболеваниями растений, домашних животных и людей. О некоторых таких достижениях в области сельского хозяйства мы расскажем в гл. 3, разд. 4. Большой экономический эффект дало использование токсических агентов избирательного действия в ветеринарной практике, например при протозойных инфекциях (гл. 3, разд. 3; гл. 8, разд. 3), а также для уничтожения насекомых и червей (гл. 3, разд. 3; гл. 3, разд. 4; гл. 10, разд. 3).

Биологические методы и методы, основанные на избирательной токсичности, можно применять и совместно. Примером такого комбинированного подхода может служить кампания по опрыскиванию дефолиантами, проводившаяся в африканских джунглях с целью уничтожения листвы с гнездящимися в ней мухами цеце, переносчиками трипаносом — возбудителей сонной болезни. Другим примером может служить использование N-тритилморфолина (фрескон) в качестве средства для борьбы с моллюсками, эффективного даже в разведении 1 : 20 000 000. В стоячей воде прудов фрескон уничтожает улиток, которые на определенной стадии развития являются носителями ленточных червей — возбудителей бильгарциоза (шистосоматоза) у людей. В обоих случаях сначала проводилось биологическое изучение жизненного цикла паразита, а затем на основе полученных данных вырабатывались показания к применению токсических агентов, действующих опосредованно.

Комбинировать биологическое действие с токсическим можно и несколькими по-иному. Например, для того чтобы заставить насекомых скапливаться на какой-нибудь небольшой площади, применяют в качестве приманки феромоны (вещества, представляющие собой аттрактанты естественного происхождения). Такие скопления насекомых уже значительно легче уничтожить направленной пульверизацией токсического агента. Было установлено, что феромоны относятся к категории алифатических соединений. Так, бомбикол, выделенный из самок шелкопряда, оказался 10,12-гексадекадиен-1-олом:



Аттрактант, выделенный из самок совки хлопковой, представляет собой 10-пропил-5,9-тридекадиенол. Структура этих соединений настолько проста, что их промышленный синтез в принципе не представляет особых трудностей; однако гораздо важнее было бы иметь в распоряжении препараты атрак-

тантов, выделенных из самцов. Подробные сведения о феромонах см. у Джейкобсона [769].

Различные аспекты применения принципа избирательной токсичности в медицине обсуждаются во всех главах этой книги. В гл. 3 дается общий исторический обзор развития химиотерапии заболеваний, вызванных бактериями, простейшими, вирусами, грибами, насекомыми и червями. Одно из типичных достижений химиотерапии — проведение в мировом масштабе кампании по уничтожению малярии. Для этой цели были использованы лекарственные вещества, действующие профилактически, например пириметамин (6.24), а также такие методы истребления комаров-переносчиков болезни, как осушение почвы и обработка ДДТ. И вот результат: если, скажем, в Италии в 1919 г. было зарегистрировано 8407 случаев смерти от малярии, то после проведения всех этих профилактических мероприятий, начиная с 1948 г., случаев со смертельным исходом больше не было. В Индии 30 лет назад 100 млн. людей ежегодно заболевали малярией, из них от 1 до 2 млн. умирали. В настоящее время число заболеваний в этой стране снизилось до менее чем 100 000 в год, и случаи смертельного исхода являются редкостью.

Вопросы, связанные с иммунотерапией (прививание вакцин и сывороток), не обсуждаются в этой книге, хотя и сейчас они представляют собой плодотворную область исследований. В гл. 3 (разд. I), там, где это было уместно, приведены данные, относящиеся к истории иммунотерапии.

В области неинфекционных заболеваний фармакодинамика также имеет замечательные достижения. Больного можно избавить от боли любого типа и любой силы, его можно погрузить в сон и вывести из этого состояния, избавить от судорог и, наоборот, вызвать их в лечебных целях. Все это удается осуществить с помощью простых по структуре, избирательно действующих токсических агентов, не нанося при этом вреда больному. Далее, можно повысить или понизить температуру больного, избирательно возбудить или подавить функции его симпатической и парасимпатической нервной системы, повысить или понизить основной обмен и, наконец, увеличить или уменьшить свертываемость крови. Более того, оказывается возможным влиять на степень активности мышц (в том числе сердечной), а также на функцию некоторых эндокринных желез. Можно блокировать повышенную секрецию гистамина, вызывающую появление многочисленных неблагоприятных симптомов. Использование методов, основанных на избирательной токсичности, применительно к онкологическим заболеваниям дает хотя и ограниченные, но весьма ценные результаты. Это излечение хорионэпителиомы, опухоли Беркита, возможность лечения рака предстательной железы и, с меньшим эффектом, лейкоза и болезни Ходжкина (лимфогранулематоза).

Как ни огромны все эти достижения, позволившие спасти столько жизней и уменьшить страдания людей, очень многое еще предстоит сделать. Всемирная организация здравоохранения сообщила в 1966 г., что еще около миллиона человеческих жизней в год уносит малярия (в 1950 г. число жертв было втрое больше). Если число заболеваний оспой во всем мире уменьшилось до 50 000 в год, то имеется еще около 10 млн. прокаженных, из которых только 18% получают лечение [1531], и около 4 млн. являются жертвами фрамбезии. Предположительно 400 млн. человек страдают от трахомы, 200 млн. — от филяриатозов и 20 млн. — от онхоцеркозов.

Бильгарциоз ежегодно поражает около 100 млн. человек, а в некоторых странах, в особенности в Египте, большая часть населения болеет им в тот или иной период своей жизни. Столь печальное положение вещей частично связано с низким уровнем жизни большей части населения земного шара. Так, 70% населения не обеспечены достаточно и надежно водой, а 85% вынуждены довольствоваться самыми примитивными способами орошения.

Однако совершенно очевидно, что и в самых развитых странах многие проблемы химиотерапии остаются нерешенными. Мы еще должны научиться лечить некоторые виды заболеваний, вызываемых паразитическими червями (например, эхинококкоз), а также почти все инфекционные заболевания, возбудителями которых являются мелкие вирусы, — полиомиелит, оспу, желтую лихорадку, бешенство и грипп. Существуют вакцины, предупреждающие возникновение этих пяти вирусных заболеваний, а для двух из них существуют и лекарственные препараты, обладающие профилактическим действием, однако методов лечения этих заболеваний пока нет. Мало того, для более чем 40 вирусных заболеваний вообще не известны ни методы лечения, ни способы профилактики. Хороший обзор по химиотерапии вирусных заболеваний принадлежит Томпсону [1420]. Кроме того, для целого ряда заболеваний существующие методы лечения недостаточны, и необходимы лучшие. Это относится к таким заболеваниям, как проказа, бруцеллез, трипаномоз в Южной Америке (*T. cruzi*) и общие грибковые заболевания у человека.

Если в слаборазвитых странах большинство заболеваний населения относится к категории инфекционных, т. е. подлежит ведению химиотерапии, то в более развитых странах распространены главным образом заболевания, связанные с нарушениями обмена, и, следовательно, для воздействия на них нужны фармакодинамические агенты. В этих странах основные причины смерти следующие (расположены в порядке убывающей частоты): сердечно-сосудистые заболевания, рак, сосудистые заболевания центральной нервной системы. На долю этих заболеваний приходится 79% всех случаев смерти. В большинстве высокоразвитых стран смертность от заболеваний сердечно-сосудистой системы и, в частности, от атеросклероза, неуклонно растет [1531]. Психические и ревматические заболевания служат основной причиной нетрудоспособности. Для борьбы со всеми этими заболеваниями в распоряжении врачей имеются некоторые фармакодинамические средства, но они недостаточно эффективны, и поиски более активных соединений продолжаются.

Таким образом, в области применения избирательной токсичности остается сделать значительно больше того, что уже сделано. Многочисленные возможности, которые открывает перед человечеством эта область знания, использованы пока еще лишь очень поверхностно. И все же достигнутые успехи столь поразительны и так много уже сделано в области здравоохранения и увеличения пищевых ресурсов в более развитых странах, что можно надеяться на успешное разрешение все новых проблем исключительной важности. Несомненно и то, что эти проблемы решались бы много быстрее, если бы уже установленные данные о связи между физико-химическими свойствами и биологическим действием различных соединений периодически обобщались и использовались для разработки текущих проблем.

## 1. Теоретические основы избирательности

Агент избирательного действия может реализовать свое действие в основном тремя способами: либо вредные виды преимущественно накапливают это вещество, либо оно взаимодействует с клеточными структурами, имеющимися только у вредного вида, либо, наконец, оно обладает способностью повреждать какую-нибудь химическую систему, жизненно важную для вредного вида и не имеющую большого значения для полезного.

*Избирательность действия, обусловленная накоплением агента*, в ряде случаев связана только с морфологическими особенностями. Так, сильная опушенность сорных растений по сравнению с культурными злаками или относительно большая (на единицу веса) уязвимая поверхность вредного насекомого по сравнению с млекопитающим, на которое это насекомое садит-

ся, приводит к тому, что на долю вредного вида приходится большее количество распыляемого токсического агента. В ряде других случаев избирательное накопление осуществляется за счет более специфичных механизмов (см. ниже, разд. 2).

*Избирательность действия на основе цитологических различий.* Уже давно известно, что строение растительных и животных клеток резко различно. Так, например, у растений имеются клеточные стенки и фотосинтезирующий аппарат, которых нет у животных; в то же время у животных имеются мышечные и нервные клетки, которых нет у растений. В течение трех последних десятилетий методами электронной микроскопии было показано, что в самих клетках содержатся многочисленные компоненты (названные органеллами), между которыми имеются сильно выраженные видовые различия; кроме того, различия существуют и между клетками разных тканей у одного организма. Вопрос о том, как все эти различия могут способствовать избирательности действия токсических агентов, рассмотрен в разд. 3.

*Избирательность за счет биохимических различий.* Уже довольно давно считается общепринятым, что у всех живых существ, будь то животные, растения или микробы, биохимические процессы протекают одинаково. Некоторые из сравнительно недавних открытий принесли новые доказательства в пользу этой точки зрения. Если эта концепция абсолютно верна, то биохимия мало что привнесет в учение об избирательной токсичности. Отметим некоторые из важнейших особенностей универсальной и фундаментальной биохимической схемы организмов. Первичной единицей жизни во всех ее проявлениях служит клетка (вирусы не имеют клеточной структуры, но они паразитируют в клетках, изменяя метаболические процессы в клетке-хозяине таким образом, чтобы обеспечить себе питание и размножение). Все виды живого содержат нуклеиновую кислоту, в которой закодирована генетическая информация о функциях данного организма, причем эта информация передается посредством синтеза других нуклеиновых кислот и специфических белков, многие из которых представляют собой ферменты. Далее, известно, что агенты, подобно колхицину влияющие на митоз, всегда у всех организмов нарушают его на одной и той же стадии, что свидетельствует в пользу представления об универсальности биохимического механизма клеточного деления.

Катаболические процессы во всех клетках протекают также очень сходно. У бактерий, грибов, простейших, червей, насекомых, позвоночных и высших растений углеводы и жиры претерпевают в процессе метаболизма одинаковые превращения под действием одних и тех же ферментов. Процессы гликолиза протекают одинаково у таких низших форм живого, как, скажем, дрожжи, и в столь высоко организованных структурах, как мышечная ткань или печень человека. С истощающей полнотой это было показано в исследованиях с применением ингибиторов, а также в экспериментах с выделением и идентификацией соответствующих ферментов и промежуточных продуктов. Далее, аденозинтрифосфат служит универсальной валютой в энергетическом обмене; во всех клетках перенос энергии между разными процессами метаболического цикла, достигающийся при сбалансированном функционировании анаболизма и катаболизма, осуществляется с помощью этого макроэргического соединения.

Все клетки нуждаются в железе и других тяжелых металлах, которые входят в состав их коферментов. Во всех живых клетках в качестве незаменимых компонентов коферментов используются определенные вещества, в частности тиамин, рибофлавин и никотинамид, относящиеся к витаминам группы В.

Однако каким бы истощающим ни казалось это сходство между различными видами, уже сам по себе факт, что все виды живого функционируют по-разному и выглядят отлично друг от друга, свидетельствует о том,



что в действительности между ними должны существовать четкие биохимические различия. По этим же причинам, очевидно, по-разному протекают биохимические процессы и в различных тканях у любого из видов.

#### Извлечение из систематики животных

- A. Protozoa (одноклеточные)
- B. Porifera (например, губки)
- B. Coelenterata (например, гидры, медузы)
- Г. Platyhelminthes (плоские черви)
- Д. Nemathelminthes (круглые черви)
- E. Annelida (кольчатые черви)  
Подразделяются на Polychaeta (например, пескожилы), Oligochaeta (например, дождевые черви), Hirudinea (пиявки).
- Ж. Mollusca  
Подразделяются на Gastropoda (например, улитки), Cephalopoda (осьминоги), Lamellibranchiata (двустворчатые моллюски).
- З. Arthropoda  
Подразделяются на Crustacea (например, крабы, усоногие раки), Insecta (например, мухи), Arachnida (например, пауки).
- И. Echinodermata (например, морские звезды, морские ежи).
- К. Protochordata (например, оболочники, в частности асцидии).
- Л. Vertebrata
  - I. Pisces (рыбы)
    - Elasmobranchii (например, акулы, скаты)
    - Teleostei (например, костистые рыбы)
  - II. Amphibia (например, лягушки)
  - III. Reptilia (змеи, ящерицы, крокодилы, черепахи)
  - IV. Aves (птицы)
  - V. Mammalia (млекопитающие)

Сравнительная биохимия в последние годы развивалась с такой быстротой, что даже в семи томах руководства Флоркина и Мэзона [525] не смогла уместиться вся накопленная за это время информация. Наиболее значительные биохимические различия между видами проявляются не в катаболических процессах, а в наборе и биосинтезе ферментов и других более низкомолекулярных соединений, участвующих в процессах роста и деления.

#### Извлечение из систематики растений

- A. Thallophyta
  - (a) Algae (водоросли)
  - (b) Fungi (грибы)
- B. Embryophyta
  - (a) Bryophyta (мхи, печеночники)
  - (b) Pteridophyta (папоротники, плауны)
  - (c) Spermatophyta
    - (1) Gymnospermae (например, хвойные)
    - (II) Angiospermae (цветковые растения)
      - (1) Monocotyledoneae (однодольные)
      - (2) Dicotyledoneae (двудольные)

Вопросы, связывающие явление избирательности с биохимическими различиями, обсуждаются в разд. 4.

Мы здесь приводим (в очень сжатом виде) филогенетическую классификацию животных и растений. Существует множество других таксономических систем, а в связи с тем, что в классификации все возрастающее значение приобретают химические признаки, система классификации уже была в некоторых отношениях пересмотрена. Термин «высшие животные» обычно относят к позвоночным, а «высшие растения» — к сперматофитам, но следует иметь в виду, что многие из физиологических особенностей этих высших

форм уже вполне развиты у организмов, занимающих на эволюционной шкале низшие места. Установлено, что бактерии как форма жизни отстоят от животного и растительного царств очень далеко; в еще большей степени это относится к вирусам.

## 2. Избирательность за счет различий в распределении

Избирательность на основе различий в распределении означает, что какой-либо агент токсичен как для полезных, так и для вредных клеток или организмов, но способностью накапливать его обладают только последние. Пример такого рода избирательности для случая, когда полезные и вредные клетки находятся в организмах разных видов, иллюстрируется с помощью фиг. 1. Рабатэ [1170] обнаружил, что водный раствор серной кислоты



Фиг. 1. Применение для борьбы с дикой редькой на пшеничном поле 10%-ного раствора серной кислоты (разбрызгивание). Слева участок поля после обработки [101].

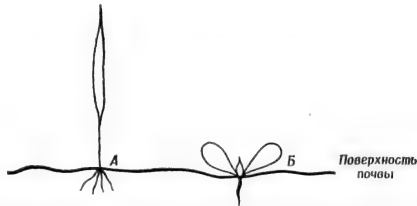
можно без опаски применять для борьбы с сорняками на полях. Справа на фотографии видна не обработанная серной кислотой часть поля пшеницы, заросшая цветущей дикой редькой. На другом участке, подвергнутом обработке, сорняков не видно [101, 1202]. Для опрыскивания использовался 10%-ный (по объему) раствор серной кислоты из расчета 1300 л/га. Само собой разумеется, что серная кислота повреждает цитоплазму обоих растений — и пшеницы, и сорняка. Однако листья пшеницы имеют гладкую и скользкую поверхность, тогда как у двудольных сорняков она грубая и морщинистая; поэтому серная кислота скатывается с листьев пшеницы и скапливается на сорняках. Кроме того, нежные молодые ростки хлебных злаков защищены листочками и расположены ближе к земле, у основания растения, тогда как точки роста двудольных находятся на верхушках побегов и потому оказываются легко уязвимыми (фиг. 2). Таким образом, сорные травы гибнут, а полезные растения выживают в результате избирательного действия, которое целиком определяется различиями в распределении токсического вещества [181].

Аналогичным образом высокоэффективное противоглистное средство фенотиазин, применяемый для лечения глистных заболеваний у овец, при пероральном введении накапливается только в клетках паразитов, но не

в клетках слизистой кишечника, тогда как при парентеральном введении он токсичен и для паразита, и для хозяина [389]<sup>1</sup>.

Ниже будут приведены примеры избирательного распределения токсических агентов в разных тканях одного и того же организма.

Токсин, выделяемый *Clostridium botulinum*, является самым сильным из известных токсинов. Попадая в желудок, чаще всего с загрязненной пищей, он избирательно накапливается в окончаниях периферических двигательных нервов, что ведет к параличам. Летальной (для мышей) является доза всего лишь в  $10^{-10}$  г/кг. Почти все это количество несмотря на сильное



Фиг. 2. Проростки однодольного (А) и двудольного (Б) растений (эскиз).

разбавление в содержимом желудка (и возможности потерь в кровяном русле) в конечном счете достигает чувствительных клеток (клетки-мишени). Минимальная летальная доза составляет всего 8 молекул на каждую нервную клетку [676]. Таким образом, 1 мг токсина может уничтожить около 1200 т живого вещества, а 200 г достаточно для истребления всего населения земного шара. Токсин *Clostridium botulinum* имеет крупные молекулы (молекулярный вес 900 000), поэтому он перемещается от кишечника к клеткам-мишеням обычно медленно; тем не менее потери в пути очень незначительны.

Известны, однако, примеры избирательного накопления с более благоприятным результатом. Так, после внутримышечного введения больному цианкобаламина (витамин В<sub>12</sub>) происходит, после  $10^{10}$ -кратного разбавления жидкостями в организме, накопление его в костном мозгу. Даже 1 мкг этого витамина, введенного указанным путем, достаточно для того, чтобы в костном мозгу больных с пернициозной анемией началось образование эритроцитов.

Йодобладеет свойством избирательно накапливаться в щитовидной железе. За этим процессом легко проследить, применяя радиоактивный йод. Использование радиоактивного йода для воздействия на опухоли щитовидной железы также может служить хорошим примером избирательного действия, являющегося следствием специфичности распределения. Обычная доза при внутреннем введении составляет всего  $10^{-12}$  г, причем уже через очень короткий промежуток времени 80% этого количества можно обнаружить в щитовидной железе. В результате сходных исследований с применением радиоактивных веществ было показано, что фосфаты обладают способностью к специфическому накоплению в костном мозгу. Азобензолборные кислоты избирательно поглощаются тканью опухолей мозга, при этом в опухолях их концентрация в 100 раз выше, чем в мозгу.

<sup>1</sup> Здесь уместно привести пример успешного лечения глистных инвазий млекопитающих типичными наркотиками, оказывающими неэлектролитное неспецифическое действие как на самих гельминтов, так и на организм хозяина, причем для хозяина эти вещества значительно более токсичны (Парибок В. П., Наркотики и клеточный паркоз в химиотерапии. Изд-во АН СССР, М.— Л., 1961). Успех лечения здесь целиком определяется временно преобладающим накоплением наркотиков в паразитах.— Прим. ред.

Диэтиламиноэтиловый эфир пенициллина (пенетамат, эстопен), введенный внутримышечно в руку или ногу, избирательно концентрируется в очаге воспаленной легочной ткани, а затем гидролизруется там с образованием пенициллина [665].

Некоторые подсодержащие ароматические соединения избирательно выводятся с желчью, например попановая кислота, или с мочой, например диодон. В связи с этим они используются в качестве контрастных веществ при рентгенологическом исследовании желчного пузыря или соответственно почек.

Различные N-замещенные фенотиазина, содержащие боковые цепи основного характера (например, антигистаминный препарат прометазин и транквилизатор хлорпромазин), обладают способностью накапливаться в тканях глаза человека и других млекопитающих. Зачастую при этом их концентрация здесь в 50 раз превышает концентрацию в других тканях [1157].

Далее, в экспериментах с меченым тритием эстрадиолом было показано, что этот женский половой гормон связывается только во влагалище и матке и не содержится в тканях других органов [780]. Было доказано, что белок, с которым связывается эстрадиол, специфичен в отношении этого гормона [1428].

Все эти примеры указывают на то, что избирательность при распределении лекарственных веществ в биологических системах может быть необычайно высокой. Однако вещество может обладать выраженной избирательной активностью вопреки неблагоприятным условиям распределения; при этом механизм избирательного действия будет иным (разд. 3 и 4).

В гл. 2, в которой подробно описаны всасывание, распределение и выделение, объясняются некоторые механизмы избирательного распределения. Ключевое описание этих явлений дается в гл. 2 (разд. 6).

### *3. Цитологические различия как основа избирательности*

Различные формы живого очень сильно различаются по размерам. Ниже, на стр. 23 этой книги мы приводим изображения млекопитающего, насекомого и бактерии (при этом взяты средние по размерам представители каждой группы), которые отличаются друг от друга по величине в тысячи раз. Что же касается молекул (лекарственных веществ, витаминов, коферментов), то их размеры еще в тысячу раз меньше (фиг. 3).

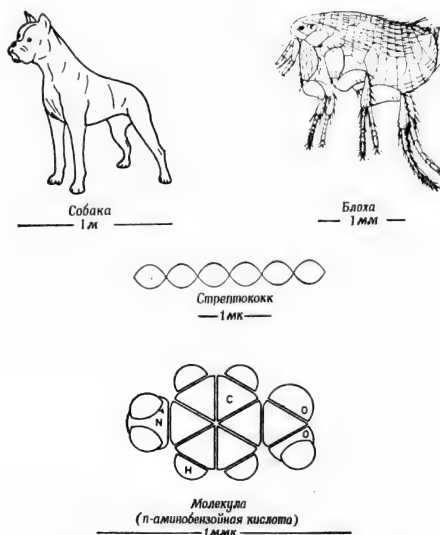
Клетки различаются по своим размерам не столь сильно. Бактерия средней величины диаметром 1—4  $\mu\text{м}$  вполне сравнима с почти шарообразной паренхимной клеткой диаметром 15—70  $\mu\text{м}$  (из таких клеток состоит большинство растительных тканей). К числу исключительно крупных клеток растений относятся клетки мякоти мясистых плодов (до 1  $\text{мм}$ ) и клетки волокон (обычно 1—2  $\text{мм}$ , а иногда и 100  $\text{мм}$  в длину при нормальной толщине). Клетки растений, как правило, остаются небольшими вплоть до некоторого определенного момента, когда их размеры начинают резко возрастать, по мере того как увеличиваются вакуоли, наполненные водой.

Животные клетки, не содержащие крупных вакуолей, обычно после деления не слишком сильно увеличиваются в размерах и, как правило, бывают несколько меньше, чем клетки растений. Так, размеры типичной клетки эпителия составляют 10·10·50  $\mu\text{м}$ , а диаметр эритроцита составляет 8  $\mu\text{м}$ . Нервные клетки часто бывают очень крупными. Так, у млекопитающих аксоны имеют диаметр 1—20  $\mu\text{м}$ , а длина их может достигать 1  $\text{м}$  (диаметр тела нервной клетки может достигать 100  $\mu\text{м}$ ). Другим примером исключительно по своей величине животной клетки может служить оплодотворенное яйцо.

Растения во многом отличаются от животных: у них нет нервной системы, мышц (а значит, и способности к перемещению), достаточно эффективной

системы циркуляции, но зато имеется (только не у грибов) механизм, осуществляющий фотосинтез. Тем не менее на клеточном уровне сильнее выражено сходство, нежели различия.

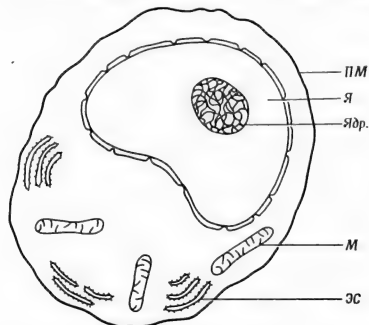
Животные и растительные клетки образуют ткани, и у многоклеточных организмов это обеспечивает очень важную возможность разделения функ-



Фиг. 3. Различия в размерах в мире живого огромны (здесь приведены размеры средних по величине животных — например, из млекопитающих приведена собака, а не кит). Каждый объект изображен увеличенным в 1000 раз по сравнению с предыдущим.

ций. Но, помимо этого, дальнейшее разделение функций происходит на клеточном уровне (разд. 3, а — е). На фиг. 4 изображена схема типичной клетки, показывающая некоторые ее компоненты. Клетка окружена очень тонкой плазматической мембраной, весьма избирательно контролирующей проникновение веществ в цитоплазму. Поверх мембраны может находиться клеточная оболочка, которая гораздо толще и пористее, чем мембрана. Самая крупная органелла клетки — это ядро с характерной для него пористой мембраной; в ядерном соке видно ядрышко. Кроме того, в цитоплазме размещаются (на рисунке их меньше, чем в действительности) некоторые другие клеточные органеллы: митохондрии, эндоплазматическая сеть и рибосомы. В различных отсеках, на поверхностях раздела и на мембранах этих органелл протекают специфические ферментативные реакции. Само собой разумеется, что еще многое из того, что происходит при взаимодействии всех этих структур, надлежит выяснить. Однако уже на бактериях становится очевидным, каким образом различия на клеточном уровне создают основу избирательности (стр. 25).

Даже у млекопитающих неодинаковая избирательность в отношении разных тканей обусловлена сильно выраженными различиями в форме клеток. Не менее это справедливо и для тонкой структуры клеток. Ядра в клетках разных тканей человеческого организма так резко различаются по внешнему виду, что в практике судебной экспертизы долгое время существовала система идентификации тканей, основанная на этих различиях. Митохондрии у млекопитающих также различны в разных органах.



Фиг. 4. Ультраструктура типичной клетки.

ПМ — плазматическая мембрана; Я — ядро; Ядр. — ядрышко; М — митохондрия; ЭС — эндоплазматическая сеть, к мембранам которой прикреплены рибосомы.

многоклеточных животных стенки обычно не имеют. Многие простейшие (например, амебы и трипаномы) также лишены клеточной стенки. Некоторые другие из них окружены стенками из целлюлозы (толщиной приблизительно 230 Å, например, у хламидомонад), белка (у *Eimeria*) или двуокиси кремния (например, у *Foraminifera*).

Клеточные стенки у многоклеточных растений образованы матриксом аморфной структуры, состоящим из гемицеллюлоз и пектинов, в который как бы вплетены микрофибриллы целлюлозы, имеющие 10—20 мкм в ширину и очень сильно варьирующие в длину. Целлюлоза представляет собой полимер β-1,4-D-глюкозы. Гемицеллюлозы — это группа полимеризованных ангидросахаров. В их состав входят маннан, галактан, глюкан, ксилан и арабосахалан, причем последние два углевода являются самыми распространенными компонентами клеточной стенки высших растений. Пектины — это неразветвленные полимеры α-1,4-D-галактуроновой кислоты, частично O-метилированные и иногда существующие в виде солей кальция. Молекулярный вес пектинов колеблется в пределах от 25 000 до 360 000. Сначала закладывается первичная клеточная стенка, затем она утолщается, а в некоторых тканях в конечном счете пропитывается лигнином. О клеточных стенках растений см. [1319].

Клеточная стенка синтезируется с помощью ферментов, присутствующих в плазматической мембране, и, по-видимому, различные так называемые «ингибиторы образования клеточной стенки» действуют именно на эту мембрану. По крайней мере некоторые из оргanelл растений, известные под названием диктиосом (разд. 3, д), производят углеводы (они видны в клетке в виде пузырьков), которые проходят через цитоплазму к плазматической мембране и включаются в клеточную стенку.

Клеточная стенка грибов представляет собой как бы мозаику из различных углеводов с небольшим содержанием липидов и белка. Главным

Некоторые аспекты взаимосвязи между биологической структурой и функцией будут обсуждаться ниже. Для более подробного ознакомления с этими вопросами см. [141, 594]. Описание структуры клеток разных организмов и тканей можно найти в специальном атласе [1153].

#### а. Клеточные стенки

Клеточные стенки обеспечивают клеткам большую прочность, однако в них много пор и потому они не могут влиять на проницаемость, которая регулируется липопротеидными мембранами (см. ниже). Клетки

из этих углеводов является хитин<sup>1</sup> (поли-N-ацетилглюкозамин). У дрожжей хитин отсутствует. Дрожжи — это одноклеточные грибы; их клеточные стенки состоят из двух тесно соединенных структур, причем наличия любой из них достаточно для сохранения характерной формы клеток. Одна из структур состоит целиком из глюкана (полиангидрид глюкозы), вторая представляет собой маннанпротеидный комплекс, компоненты которого соединены между собой дисульфидными связями [1056, 1057]. Первая из этих структур может быть разрушена ферментными системами миксобактерий, вторая же — соединениями, содержащими сульфгидрильные группы, или путем автоклавирования. Цитоплазма выходит из клетки в окружающую среду только после того, как разрушаются обе структуры [87]. В цитоплазме дрожжей содержится дисульфидаза, которая время от времени атакует клеточную стенку, проделывая в ней крошечное отверстие, из которого высвобождается отросток протоплазмы. Это начало образования почки, которая в дальнейшем превращается в новую дрожжевую клетку [1057].

В отличие от клеток высших организмов клетки грибов испытывают высокое внутреннее осмотическое давление, так что если попытаться разрушить клеточную стенку, например действием хитиназы (которую можно добыть из улиток), то клетки лопаются; разумеется, этого можно избежать, повысив осмотическое давление извне.

В бактериальных клетках также существует высокое тургорное давление — порядка 20 атм у грамположительных и 5 атм у грамотрицательных микроорганизмов [1012, 1013]. От разрыва их удерживает толстая стенка, на которую приходится часто 25% сухого веса клетки. В процессе роста протопласта (т. е. содержимого клетки, помимо оболочки) должен происходить и синтез дополнительного материала клеточной стенки. Механизм действия некоторых бицидных средств, применяемых в медицине (например, оксацилина — гл. 6, разд. 4 — пенициллина, бацитрацина, новобиоцина, ванкомицина и цефалоспоринов — гл. 10, разд. 2), связан с их способностью препятствовать этому синтезу. В результате наступает разрыв бактериальных клеток под действием собственного тургорного давления изнутри.

Величина эффективного диаметра пор в стенке бактериальных клеток составляет приблизительно 1 мкм [1011]. Самым важным компонентом стенки бактериальных клеток является муреин — так назвал эту гигантскую молекулу мукопептида с поперечными связями Парк [1096]. Присутствие муреина придает форму и жесткость клеточным оболочкам всех бактерий. Более сложное соединение, состоящее из повторяющихся гликопептидных единиц муреина, тогда же было названо муропептидом. Одним из компонентов клеточной стенки бактерий служит также тейхоевая кислота (см. ниже).

Муропептид состоит из ацетилглюкозамина, связанного с ацетилмуравовой кислотой, которая в свою очередь соединена с коротким полипептидом. Отличительной особенностью стенок бактериальных клеток как раз и служит присутствие в них муравовой кислоты совместно с пептидом. Пептид этот к тому же содержит некоторые аминокислоты, отсутствующие в белках (см. ниже).

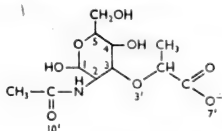
Ацетилмуравовая кислота (1.4) представляет собой глюкозамин, этерифицированный молочной кислотой по 3'-атому кислорода [1382]. Остаток молочной кислоты в свою очередь связан с полипептидом через амидную группу. Эта часть структуры выделена (1.2) (показана связь с аланином). Другая молекула N-ацетилмуравовой кислоты связана по атому C<sub>1</sub> с N-ацетилглюкозамином β-1,4-связью<sup>2</sup>; образующийся дисахарид составляет

<sup>1</sup> Хитин в больших количествах содержится также в наружном скелете насекомых и ракообразных.

<sup>2</sup> В оболочке *Staphylococcus aureus* содержится не менее 100 структурных единиц гексозамина, соединенных между собой [1388].

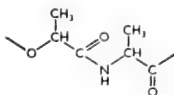
скелет всей этой структуры. При действии лизоцима на клеточные стенки *Micrococcus lysodeikticus* связи между этими двумя сахарами расщепляются. Анализ продуктов гидролиза позволил сделать заключение о структуре этого гликопептида. Лизоцим с легкостью гидролизует также гликопептиды многих других грамположительных и грамотрицательных бактерий [958]. У некоторых бактерий, например у многих стрептококков и микрококков, в гликопептиде содержатся сравнительно немногочисленные пептидные боковые группы.

Один из типичных полипептидов стенки бактерий — полипептид *Staphylococcus aureus* (1.3). Следует отметить, что три из пяти его аминокислот существуют в необычной D-конфигурации [1094], которая не встречается в пептидах, выделенных из всех остальных живых организмов. У других видов обнаруживаются иные особенности в аминокислотном составе.



Ацетилмуравовая кислота (анион)

(1.1)



(1.2)

D-Лактил-L-Ала-D-Изоглу-L-Лиз-D-Ала-D-Ала

(1.3)

Так, из грамположительных микроорганизмов лизин характерен для кокков, а 2,6-диаминопимелиновая кислота — для палочек. Диаминопимелиновая кислота встречается в виде LL-, DL- и DD-изомеров, из которых наиболее обычна DL-форма (*мезо*) [693]. Помимо бактерий (к которым сейчас относят, выделяя их в особый порядок Actinomycetales, стрептомицеты, нокардию, актиномицеты и микобактерии), эта кислота встречается еще только у примитивных сине-зеленых водорослей [1582]. В клеточных стенках истинных грибов полипептиды никогда не содержатся [378]. У некоторых видов бактерий в клеточных стенках вместо лизина или диаминопимелиновой кислоты встречаются D- или L-орнитин или даже 2,4-диаминоасляная кислота. Все эти аминокислоты с сильно выраженными основными свойствами сходны по своей химической структуре. У некоторых видов бактерий вместо глутаминовой кислоты иногда встречается аспарагиновая. В остальном состав аминокислот полипептида (1.3) у разных видов варьирует незначительно. Иногда лизин через свою ε-аминогруппу соединяется поперечной связью с пентапептидом, состоящим только из глицина [1563]. К образованию молекулы муреина ведут два независимых друг от друга процесса: 1) полимеризация структурных дисахаридпентапептидных единиц за счет гликозидных связей (эта реакция ингибируется ванкомицином); 2) транспептидирование между структурными единицами дисахаридпептидов (эта реакция ингибируется пенициллином). Подробности об ингибировании этих процессов см. в гл. 10, разд. 2. До полимеризации каждый пентапептидидисахарид соединен посредством пирофосфатной связи с липидом мембраны, который, как выяснилось, представляет собой полимер метилдвинилкарбинола с цепью из 55 атомов углерода [678].

Клеточные стенки у грамотрицательных бактерий устроены несколько более сложно, чем описанные выше клеточные стенки грамположительных бактерий. Обычный скелет молекулы муреина бывает одет снаружи еще двумя слоями: один из них липопротеидный, второй — липополисахаридный



[129, 257, 1504]. В этих клеточных стенках содержится всего около 10% гликопептида, который у всех изученных видов состоит главным образом из муравовой и диаминоимелиновой кислот и аланина. Клеточные стенки грамотрицательных микроорганизмов содержат и другие слои, но прочность этих слоев зависит от наличия в них гликопептидов, в отсутствие которых происходит их разрыв [958, 1504].

С помощью гидролитического расщепления стенок различных бактерий удалось обнаружить в них остатки других сахаров (маннозы, глюкозы, арабинозы, рамнозы и галактозы), которые, по-видимому, входят в их состав в виде полимерных ангидридов типа маннана [377].

Тейхоевые кислоты экстрагируют из бактериальных клеточных стенок горячей трихлоруксусной кислотой, так что, возможно, они соединены с полисахаридным скелетом нековалентно. Эти кислоты представляют собой полимеры глицерофосфата и рибитфосфата и составляют значительную часть (до 40%) клеточной стенки разнообразных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [88]. Однако у некоторых видов стрептококков и у *E. coli* содержится лишь очень небольшое количество этих кислот, а у *M. lysodeikticus* они и вовсе отсутствуют. Во всех этих кислотах имеются лабильные эфирные связи (с D-аланином), а также зачастую остатки сахара, связанные гликозидной связью с глицерином или рибитом. Тейхоевые кислоты в природе встречаются, по-видимому, только у микроорганизмов.

Тейхоевая кислота из клеточных стенок *Bacillus subtilis* представляет собой полимер из 9 молекул 4-O-( $\beta$ -D-глюкопиранозил)-D-рибит-5-фосфата, связанных между собой фосфодиэфирными связями в положениях 1 и 5 рибита. D-аланин связан с оксигруппой каждого из остатков рибита в положении 2 или 3. Тейхоевая кислота *Staphylococcus aureus* Н построена аналогичным образом из 8 молекул, содержащих в качестве сахара N-ацетилглюкозамин, а тейхоевая кислота из *Staphylococcus albus* представляет собой полимер 1,3-глицерофосфата, в котором каждое четвертое элементарное звено несет остаток N-ацетил-D-галактамина, соединенного главным образом по  $\alpha$ -атому с 2-оксигруппой глицерина. Тейхоевые кислоты определяют групповые антигенные свойства клеточных стенок бактерий. Эти кислоты, правда в крайне незначительных количествах (следы), были обнаружены в клетках в виде ассоциатов с РНК.

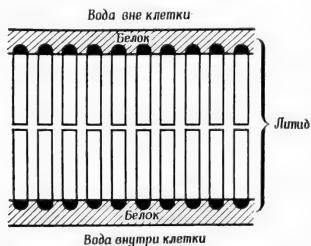
Капсулы, окружающие клеточные стенки некоторых бактерий, состоят из полисахаридов, выделяемых плазматической мембраной. Жгуты, встречающиеся у некоторых других бактерий, состоят только из белка, в состав которого входит необычная аминокислота N-метилизин [64]. Стенки бактериальных спор имеют нормальное строение, но их окружает вещество, которое представляет собой комплекс кальций — диниколонат. Снаружи этот слой одет еще белковой оболочкой, содержащей большое число дисульфидных связей [599].

Дополнительные сведения о бактериальных клеточных стенках см. в [1217].

## 6. Мембраны

Все клетки снабжены тонкой хрупкой липопротейдной мембраной, через которую осуществляется связь между цитоплазмой и внешней средой. Толщина мембраны составляет обычно 50—100 Å. Согласно данным электронной микроскопии, она состоит из трех параллельных слоев. Исследование тонких срезов с помощью электронного микроскопа после фиксации перманганатом обнаружило наличие двух плотных линий, шириной 20—30 Å каждая, с промежутком между ними 25—40 Å [1206]. Сходная структура окружает и цитоплазматические органеллы с той разницей, что мембрана

ядра, митохондрий и хлоропластов двойная (так что в электронный микроскоп видны соответственно 6 слоев). Наиболее общепринятой моделью для структуры мембраны является модель сэндвича (фиг. 5) — это два мономолекулярных слоя липида, по обе стороны которых располагается по мономолекулярному слою белка. В такой слоистой структуре гидрофильные



Фиг. 5. Схема строения плазматической мембраны по Дэвсону и Даниелли [412].

группы белковых молекул соприкасаются с водной фазой, окружающей мембрану с обеих сторон — внутри и снаружи. Предполагается, что вся эта система стабилизирована ионными связями между фосфат-анионами фосфолипидов (центральные слои) и катионами остатков лизина и аргинина (в белковых слоях). Следует, однако, отметить, что эта система может быть стабилизирована и вандерваальсовыми («гидрофобными») силами (стр. 162).

Эта модель была создана на основании данных о высоком содержании липидов и высоком электрическом импедансе плазматической мембраны, а также об оптических свойствах мембраны (все свидетельствовало в пользу

того, что липиды образуют двумерную структуру); кроме того, небольшая величина поверхностного натяжения на границе раздела с водой указывала на то, что липиды прикрыты слоем белка [395, 412].

Была предложена и другая модель, отличная от только что описанной [339]. Согласно этой модели, в мембране имеются многочисленные поры, через которые цитоплазма сообщается с водной фазой, окружающей клетку. Поры специфичны: они пропускают только воду и мелкие гидрофильные частицы, например  $K^+$ , мочевины и  $Cl^-$ . Позднее было установлено, что мембрана этого типа представляет собой мозаику из липидных цилиндров, включенных в сеть из белковых ячеек. Предполагается, что эти липидные цилиндры имеют в диаметре 90 Å и располагаются между внутренней и наружной плоскостями мембраны [1098]. Возможность существования таких структур была доказана с помощью метода рассеяния рентгеновских лучей под малыми углами для нанесенных на влажную поверхность фосфолипидов мозга. Рентгенограммы свидетельствовали о гексагональном расположении цилиндров, каждый из которых представляет собой тонкую водную нить, окруженную гидрофильными группами липидов; углеводородные цепи липидов заполняют промежутки между цилиндрами. Такая система «вода в масле» находится в равновесии с системой «масло в воде», как она показана на фиг. 5 [934]. Даже небольшие изменения температуры, концентрации и степени гидратации резко сдвигают это равновесие.

В этом последнем варианте структуры мембран белки вообще не фигурировали; однако следует заметить, что на электронных микрофотографиях типичных липопroteидных мембран, например мембран митохондрий, иногда можно увидеть, что они состоят из цепи глобул. Точно так же выглядят аксолема мозга лягушки и мембраны синаптических пузырьков (гл. 4, разд. 3, стр. 136) [287]. Слоистая структура безусловно наблюдается на электронных микрофотографиях значительно чаще, но следует иметь в виду и то, что в процессе обезжизнения (обязательного при этом методе) может происходить перестройка. Другой подход состоял в исследовании очищенных влажных мембран (например, из клеток асцитной карциномы) с помощью флуоресцентной и ультрафиолетовой спектроскопии и методом дисперсии оптического вращения [1481]. Полученные этими методами резуль-

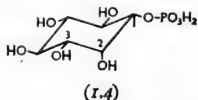
таты позволили обосновать компромиссную модель структуры мембраны. Согласно этой модели, оба гидрофильных участка молекул белка находятся на наружных сторонах мембраны, а углеводородные боковые цепи белка пронизывают промежуточный липидный слой, тесно переплетаясь с углеводородными цепями липидов. Предполагается далее, что эти проникающие в липидный слой группы белка могут быть либо одиночными, либо объединяться в агрегаты с образованием микротрубочек, заполненных водой. Дополнительные исследования в будущем покажут, выдержит ли эта модель испытание временем.

Положение вещей в настоящее время может быть охарактеризовано следующим образом. Пористые мембраны уже хорошо известны, хотя они и относительно мало распространены в природе. Характерное свойство таких мембран — необычайно высокая проницаемость. В связи с этим их легко идентифицировать по той легкости, с которой различные вещества диффундируют через такие мембраны. Они квалифицируются как мембраны «четвертого типа» и более детально описаны в гл. 2 (разд. 2). Модель Дэвсона и Даниелли (фиг. 5) хорошо согласуется со свойствами нормальной проницаемости, обнаруженными для большинства мембран. Установлено, однако, что такие слоистые («масло в воде») мембраны должны находиться в состоянии тончайшего равновесия, так что изменение физических условий внутри клетки или вне ее может вызвать на каком-либо участке мембраны временный переход к состоянию «вода в масле» (пористый тип). Такой тип инверсии лучше всего изучен на эмульсиях, в которых ее вызывают, прибавляя кальций или другие двухвалентные катионы.

Вместе с тем проводится большая работа с искусственными мембранами, в частности с целью создания возбудимых мембран [1029]. Другая цель этих работ — изучение прохождения ионов через мембраны и влияния стероидных гормонов на этот процесс [104].

Более подробные сведения о химии явлений, протекающих на поверхностях, содержатся в гл. 12.

Некоторые более подробные данные о химическом составе клеточных мембран приведены ниже. В состав липидов входят триглицериды (обычные жиры), жирные кислоты, лецитин, холестерин и родственные им соединения [412]. Важными компонентами мембран служат фосфолипиды, содержащие миоинозит. Так, например, в клетках гриба *Neurospora crassa* миоинозит-содержащий липид присутствует во всех мембранах; у мутантного штамма этого гриба, не содержащего инозита, все мембраны оказываются поврежденными. Миоинозит служит фактором роста для дрожжей, а его аналоги, напротив, тормозят рост [1306]. Конфигурация L-миоинозит-1-фосфата, который, по-видимому, является структурной единицей, ответственной за стабильность клеточных мембран, показана ниже (1.4) [103].



Уоткинс [1497] выдвинул оригинальную гипотезу, объясняющую действие нейрогормонов. Согласно этой гипотезе, холин, входящий в состав молекулы ацетилхолина, вызывает диссоциацию комплекса фосфатидилхолина (лецитина) с белком в клеточной мембране, сопровождающуюся высвобождением холина. При этом в мембране образуются поры, через которые могут проникать ионы натрия. Аналогичным образом предполагается, что белковые комплексы фосфатидилэтанолamina и фосфатидилсерина диссоциируют под влиянием соответственно  $\gamma$ -аминомасляной и глутаминовой кислот.

Часть белка, входящего в состав мембран, представляет собой ферментный белок. Обычно это пермеазы (гл. 2, разд. 2), но в плазматических мембранах дрожжей содержится также аденозинтрифосфатаза, которая, по-видимому, способствует усвоению аминокислот [1156].

В регулировании проницаемости плазматических мембран принимает участие кальций. На его высокое содержание указывают результаты микроанализа (прокалывание). Было высказано предположение, что двухвалентный ион кальция снижает проницаемость мембран, соединяясь с двумя анионными группами в мембране [394]. Прочность мембран может увеличиваться за счет тиоловых (сульфгидрильных) групп белка, которые образуют дисульфидные связи.

Возбудимость плазматических мембран нервных и мышечных клеток хорошо известна; однако все плазматические мембраны обладают, по-видимому, в небольшой степени способностью возбуждаться в ответ на тактильное раздражение; при этом в них образуются мелкие поры, через которые могут проходить частицы вещества (пиноцитоз); в то же время по отношению к молекулам растворенных веществ мембрана сохраняет свою способность действовать строго избирательно (гл. 2, разд. 2).

Плазматическую мембрану растительных клеток называют плазмалеммой. В настоящее время твердо установлено, что плазмалемма служит осмотическим барьером в клетке [614]. Уникальной особенностью растительных клеток является наличие в них крупных вакуолей, большей частью заполненных водным раствором, изотоничным цитоплазме. Вакуоли обычно служат местами для отходов. Однако в некоторых фазах развития клетки содержимое вакуолей может обогащаться ферментами. Тонoplast, окружающий вакуоли, по составу и свойствам, по-видимому, очень похож на плазматическую мембрану.

Плазматическая мембрана бактерий, помимо обычных особенностей, имеет и некоторые необычные. После полного гидролитического расщепления лизоцимом клеточной стенки эта мембрана становится наружным слоем клетки. В толщину она имеет 60—100 Å и иногда дает простые одиночные отороски в цитоплазму [см. 730, 815, 1012]. Плазматическая мембрана составляет около 10% сухого вещества клетки; в ней содержится около 25% липидов. В других компонентах бактериальной клетки липидов почти нет. (Данные о сравнительном содержании липидов в грамположительных и грамотрицательных бактериях, а также в дрожжах приводятся в [1253].) По данным анализа, липиды *M. lysodeikticus* на 80% состоят из фосфолипидов, в основном это дифосфатидилглицерин, а также некоторое количество фосфатидилинозита. Дифосфатидилглицерин содержит в качестве липидного компонента главным образом разветвленные алифатические кислоты с цепью из 15 углеродных атомов [944]. В составе белка найдены только обычные аминокислоты. Мембраны *M. lysodeikticus* содержат также некоторое количество маннозана и каротиноидных пигментов [572]. Бактерии совсем не содержат стероидов, даже холестерина.

У бактерий многие из ферментов, имеющих обычно внутриклеточную локализацию, содержатся в клеточных мембранах — из-за очень небольших, по сравнению с другими клетками, размеров бактерий [417, 1011, 1381]. В частности, это относится к ферментам цикла трикарбоновых кислот. У *M. lysodeikticus* и *S. aureus* в плазматических мембранах содержится более 90% сукцинат-, малат-, лактат- и форматдегидрогеназ и цитохромоксидазы [1009, 1010].

Поскольку у бактерий нет митохондрий, их функции в процессах окислительного фосфорилирования углеводов, по всей видимости, выполняет плазматическая мембрана. РНК обнаруживается в составе плазматических мембран даже после тщательного промывания, так что многие исследователи считают ее нормальным компонентом мембран [730, 1597]. Плазматические

мембраны бактерий содержат, кроме того, пермеазы и ферменты, участвующие в синтезе клеточных стенок [368]. Поэтому бактерии очень легко поражаются токсическими веществами избирательного действия: ведь жизненно важные ферменты у них оказываются весьма слабо защищенными.

Дополнительно о связи структуры и функции биологических мембран см. в [808].

#### *в. Эндоплазматическая сеть и «гладкие микросомы»*

У большинства клеток внутренняя мембрана имеет сильно извитую форму. К этой мембране в некоторых ее участках прикреплены рибосомы, а сама она образует сильно разветвленную сеть канальцев, которая заполняет цитоплазму. Вся эта структура, образованная внутренней мембраной, носит название «эндоплазматической сети».

Существует две формы эндоплазматической сети: гладкая и шероховатая — во втором случае поверхности мембраны выглядят «шероховатой» из-за многочисленных присоединенных к ней рибосом. Эти две формы эндоплазматической сети могут быть отделены друг от друга гомогенизацией с последующим дифференциальным ультрацентрифугированием. В результате гладкая эндоплазматическая сеть разрушается, так что возникают сферические структуры (артефакт), известные под названием «гладких микросом».

Эндоплазматическая сеть представляет собой органеллу, выполняющую функцию накопления. В лимфоцитах млекопитающих в этих органеллах накапливаются антитела; в клетках печени мембрана эндоплазматической сети служит местом сосредоточения ферментов, которые разрушают чужеродные жирорастворимые вещества (гл. 2, разд. 3). У бактерий эндоплазматическая сеть отсутствует, зато в грибах она развита очень сильно.

#### *г. Митохондрии и хлоропласты*

Митохондрии содержатся во всех клетках кроме бактериальных. Они имеют форму палочек или округлых телец от 0,2 до 3,0 мк в поперечнике; число их в клетке зачастую достигает 1000. В митохондриях (в которых вырабатывается и хранится энергия в живой клетке) происходит окислительное фосфорилирование [816]. Эти органеллы окружены двумя липопротеидными мембранами, каждая из которых схожа с описанной выше плазматической мембраной. Общая толщина обеих мембран составляет около 180 Å, причем внутренняя мембрана внедряется в митохондрию в виде многочисленных впячиваний (складок), известных под названием крист. Суммарная поверхность этих складок столь велика, что создается впечатление, будто каждая митохондрия буквально заполнена мембраной. Белковый компонент крист примерно на  $\frac{1}{4}$  состоит из соединений, образующих «дыхательный ансамбль»; дыхательный ансамбль — это цепь упорядоченных, расположенных в определенной последовательности соединений: никотинамидадениндинуклеотида, флавопротеида, кофермента Q, цитохромов *b*, *c*<sub>1</sub>, *c* и *a*<sub>3</sub> вместе с сопутствующими им специфическими белками. Субстратом обычно служит НАД·Н или восстановленный флавопротеид, источником которых служит цикл Кребса (разд. д, ниже). Субстрат окисляется правым, соседним с ним членом цепи, который в свою очередь окисляется следующим за ним справа звеном и т. д., вплоть до последнего члена в правом конце дыхательной цепи (т. е. цитохрома *a*<sub>3</sub>). Вся эта последовательность реакций состоит в сущности в переносе электронов вдоль цепи к цитохрому *a*<sub>3</sub>, который находится в равновесии с атмосферным кислородом [304]. Каждая единица, содержащая полный набор ферментов, называется оксисомой, причем от 2 до 3 стадий переноса в этой цепи сопряжено с фосфорилированием. Сукцинатдегидрогеназа, особый флавопротеид, восстанавливающийся в результа-

те окисления сукцинат-иона, не нуждается в НАД, но включается в цепь вблизи от кофермента Q, подобно жирным кислотам и глицерофосфат-ионам. Митохондриальные мембраны образуются, по-видимому, по разным механизмам и содержат совершенно различные наборы ферментов [1045].

В клетках, растущих в аэробных условиях (как это характерно для большинства клеток), митохондрии являются тем местом, где функционируют: 1) цикл трикарбоновых кислот, в котором происходит превращение ацетилкофермента А, продукта метаболизма углеводов и жирных кислот, в  $\text{CO}_2$  и воду с выделением энергии; 2) ферменты, обеспечивающие окисление жирных кислот с образованием ацетилкофермента А; 3) ферменты дыхательной цепи, обеспечивающие перенос на атмосферный кислород электронов, которые отщепляются от различных метаболических субстратов, так что часть полученной энергии накапливается в виде АТФ [100]. Таким образом, в митохондриях содержится еще много ферментов, помимо тех, которые присутствуют в окислителях. Следует, однако, отметить, что ферменты гликолитического цикла Мейергофа, обладающие более высокой растворимостью, находятся в цитоплазме.

Митохондрии проходят последовательно чередующиеся фазы набухания и сокращения. Набухание сопровождается выделением энергии и стимулируется ионами кальция, а также тироксином и некоторыми другими гормонами; сокращение же митохондрий вызывается только действием АТФ.

Митохондрии разных организмов значительно отличаются друг от друга по структуре. Однако даже в одном и том же организме у митохондрий обнаруживаются заметные различия в структуре. Так, у всех млекопитающих митохондрии в разных органах содержат неодинаковое число крист: в органах с высокой дыхательной активностью в каждой митохондрии содержится большое число крист, благодаря чему обеспечивается более интенсивный перенос электронов и окислительное фосфорилирование. Так, митохондрии в таких тканях, как ткани сердца и почек, в которых происходят интенсивные дыхательные процессы, содержат многочисленные кристы, тогда как в тканях печени их намного меньше. Митохондрии в разных тканях различаются также по их способности к набуханию. Так, в тканях мозга, заключенных в жесткую слабо проводящую тепло черепную коробку, содержатся митохондрии, которые под влиянием вызывающих набухание агентов могут увеличиваться в объеме не более чем на 1%, из-за наличия внутренних перекрестных переплетений; митохондрии же печени и почек могут увеличиваться в этих условиях в 3 раза по сравнению с их нормальным объемом [896]. Под действием тироксина изолированные митохондрии печени крысы набухают сильно, тогда как в этих же условиях митохондрии, изолированные из тканей сердца, изменяют свой объем лишь незначительно [1409]. Контрактивным белком митохондрий является аденозинтрифосфатаза, подобная миозину, входящему в состав мышечных волокон позвоночных.

Митохондрии содержат около 20 растворимых и примерно столько же нерастворимых белков — часть из них представляют собой структурные белки, большинство же — это ферменты. Эти белки синтезируются либо в цитоплазматических, либо в митохондриальных рибосомах [634]. РНК содержится во всех митохондриях, однако и ДНК в них обнаруживали столь часто, что в настоящее время существование в митохондриях этого неядерного генетического материала, хотя его факт и был встречен с недоверием на первых порах, считается общепризнанным [934, 1037, 1270]. ДНК митохондрий сердца и печени у млекопитающих и птиц имеет однопочечные молекулы кольцевой формы с молекулярным весом около 10 млн. [1331]. Митохондрии воспроизводятся путем образования «почек», которые с течением времени отделяются. Сведения о биохимии митохондрий см. в [1339].

Структурные различия, о которых шла речь, обеспечивают широкие возможности для избирательного действия лекарственных агентов, несмотря на то что все митохондрии содержат одинаковые ферменты и выполняют одинаковые функции. Избирательности действия способствуют и такие факторы, как различия в проницаемости у разных органов [1321]. По вопросу о некоторых ингибиторах митохондрий см. разд. 4, д.

Как уже указывалось, у бактерий митохондрий нет. Следует упомянуть некоторые организмы, у которых в определенных условиях митохондрии отсутствуют. У дрожжей, выращиваемых в анаэробных условиях, митохондрии исчезают [915]. Однако при достаточном доступе кислорода начинается синтез цитохромов и ферментов цикла лимонной кислоты; очень скоро вслед за этим появляются митохондрии. Так форма и функция оказываются взаимосвязанными. Что касается простейших, то у некоторых из них присутствует очень небольшое число митохондрий, тогда как у других митохондрии многочисленны, причем чаще они заполнены трубочками, а не кристами. Кинетопласты трипаносом, также содержащие ДНК, возникают в результате деления предсуществующих кинетопластов и, по-видимому, представляют собой простые митохондрии клетки [1368, 1461]. Трипаносомы первоначально размножаются в организме позвоночного-хозяина в форме так называемых больших трипаносом, у которых отсутствуют митохондрии и цитохромы. Затем эти паразиты заражают организм беспозвоночного-хозяина, попадая обычно в кишечник, где они размножаются уже в другой форме — критидий, содержащих полный набор митохондрий и цитохромов. Таким образом, чередование форм в ходе жизненного цикла у трипаносом происходит последовательно в двух разных организмах-хозяевах. Природным агентом, стимулирующим превращение критидий в трипаносомы, служит мочевины [1369], которая ингибирует синтез ДНК.

Органеллы, напоминающие митохондрии, окружают каждую каплю триглицерида в клетках жирового тела у насекомых. Эти так называемые каталисомы представляют собой диски диаметром в 1 мк, содержащие липазу, НАД-диафорузу и ферменты цикла трикарбоновых кислот. В их функции входит, по-видимому, синтез липидов про запас и перевод их в транспортную форму [1534].

Хлоропласты, фотосинтезирующие органеллы клеток зеленых растений, несколько похожи на митохондрии. Хлоропласты имеют около 0,2 мк в диаметре; они окружены двухслойной липопротеидной мембраной толщиной 100 Å, которая, по-видимому, относится к типу пористых. В хлоропластах имеются липопротеидные ламеллы, содержащие хлорофилл, и жирорастворимые сферические тельца, содержащие каротиноиды [987]; в хлоропластах присутствует также исключительно редко встречающийся в природе сульфопирид — 6-сульфо-6-дезоксиглюкопиранозилпальмитоиллинолеилдиглицерид [409]. В хлоропластах содержится РНК, а также генетический материал в форме ДНК, четко отличающийся от ядерной ДНК [1251]. Хлоропласты содержат и активные рибосомы. Для более полного ознакомления с литературой по химии хлоропластов см. [593].

Те немногие виды бактерий, которые способны осуществлять фотосинтез, содержат бактериальный хлорофилл, заключенный в хроматофорах, похожих на хлоропласты.

#### *д. Рибосомы и некоторые другие органеллы*

В рибосомах, частицах диаметром 100—200 Å, происходит синтез белков. Физическими и химическими исследованиями было обнаружено, что рибосомы состоят из РНК и белка. Рибосомы бактерий имеют коэффициент седиментации 70S. Цитоплазматические рибосомы дрожжей, простейших, высших растений и животных имеют коэффициент седиментации 80S, тогда

как рибосомы хлоропластов и митохондрий по значениям коэффициента седиментации и по чувствительности к ингибирующему действию хлорамфеникола [861] похожи на бактериальные рибосомы. Эти два типа рибосом отличаются друг от друга и по другим признакам.

70S-рибосомы примерно на 60% состоят из РНК, остальное почти целиком составляет белок, не отличающийся выраженными основными свойствами; отрицательный заряд нейтрализуется ионами магния. Удаление магния из этих частиц приводит к их расщеплению на две устойчивые субединицы неодинаковой величины с коэффициентами седиментации около 50S и 30S соответственно. Для обеспечения целостности и биологической активности 70S-частиц в надосадочной жидкости должны присутствовать ионы  $Mg^{2+}$  в концентрации 0,01 M. 80S-рибосомы, содержащие 40—50% РНК и 50—60% белка, для поддержания оптимума своей биологической активности нуждаются в значительно меньшей концентрации ионов  $Mg^{2+}$  — всего 0,001 M и расщепляются с трудом [1414].

В бактериях информационная РНК связывается с 30S-субединицами, а растворимая РНК — с 50S-субединицами [406]. Предполагается, что в бороздке между двумя компонентами (50S и 30S) рибосомы расположена молекула иРНК, а молекулы тРНК проходят одна за другой вдоль этой бороздки и считывают информацию с иРНК [1522] (дополнительные сведения о нуклеиновых кислотах и биосинтезе белков см. также в разд. 4, а и б). Рибосомы, выделенные из всех изученных бактерий, прочно связывают хлорамфеникол в отличие от рибосом дрожжей, простейших, млекопитающих и высших растений. Это свидетельствует о значительных различиях в их химических свойствах [1451].

Эндоплазматическая сеть образует *лизосомы*, которые способны проникать через плазматическую мембрану и, следовательно, выходить из клетки. При этом мембрана их разрывается, и из них выделяются протеолитические и другие гидролитические ферменты, например кислая фосфатаза и кислая дезоксирибонуклеаза. У некоторых одноклеточных организмов лизосомы способствуют усвоению питательных веществ клеткой — внутриклеточное переваривание. У высших организмов роль лизосом заключается в том, что они способствуют перестройке тканей, уничтожая отмершие или просто лишние клетки [448]<sup>1</sup>.

*Диктиосомы* — органеллы, носящие общее название «аппарата Гольджи»; они представляют собой мешковидные тельца разнообразной формы и разной когезионной способности, окруженные липопротеидной мембраной. Они синтезируют сложные полисахариды, во всяком случае у растений; кроме того, они служат местом накопления липидов и пищеварительных ферментов — у растений и у животных [647, 1026].

*Микротрубочки* часто встречаются, например, в нервных клетках, в клетках, снабженных ресничками, в лейкоцитах, в клетках в процессе митоза и в сперматозоидах. Алкалоид колхицин специфически и обратимо соединяется с 6S-белком, из которого обычно состоят эти трубочки [202]. Мощное действие колхицина как фактора, блокирующего митоз, препятствуя образованию веретена, а также токсическое действие колхицина на центральную нервную систему млекопитающих связано, по-видимому, с только что описанным механизмом.

*Гранулы*. Было показано, что белок, а также крахмал и другие полимеры углеводы присутствуют в цитоплазме в виде свободных гранул.

<sup>1</sup> Современные представления о лизосомах хорошо изложены в статье Покровского А. А. и Тутельяна В. А. (Успехи совр. биол., 1969, т. 68, № 3, 318). Об избирательном накоплении в лизосомах канцерогенов см. Филов В. А. и соавт. (Цитология, 1970, т. 12, № 5, 561); существует также мнение об опосредованном противоопухолевом действии химиотерапевтических препаратов путем их влияния на гидролазы лизосом (Филов В. А., Вопросы онкологии, 1970, № 7, 93).— *Прим. ред.*



В клетках бактерий, водорослей, грибов и насекомых обычно встречаются гранулы волютина, содержащие неорганическую линейную полиортофосфорную кислоту, которая не была обнаружена в организме высших животных и растений. Эти гранулы служат источниками фосфора [650], а возможно, и фосфагенов (аккумуляторов энергии). Иногда и рибонуклеопротеидные частицы также называют «волютином».

*Центросома* с двумя центриолями играет важную роль в митозе животных клеток и клеток низших растений.

### *е. Ядро*

Все клетки, за исключением бактериальных, имеют крупное ядро, часто сферической формы, в котором с помощью микроскопа можно различить одно или два ядрышка. Ядрышки содержат РНК. Ядро окружено двумя мембранами, внутренней и внешней, каждая толщиной 80 Å, расположенными на расстоянии в несколько сот Å друг от друга. Ядрышко представляет собой сплетение нитей и не имеет оболочки. В ядерном соке располагаются нити хроматина, которые во время митоза уплотняются и упорядочиваются, и в этом состоянии рассматриваются уже как хромосомы (ДНК + гистоны). Общая длина молекулы ДНК в ядре составляет около 1 м. Состоит эта молекула примерно из  $3 \cdot 10^9$  нуклеотидов, каждый с молекулярным весом около 350. Ф. Сэнгер сравнивал ДНК по количеству хранящейся в ней информации с хранилищем большой библиотеки.

У бактерий вместо ядра имеются «хроматиновые тельца», которые представляют собой тяжи ядерного вещества, не защищенные обычными ядерными мембранами. Методом фазово-контрастной микроскопии было показано, что хроматиновые тельца находятся в центральной области протоплазмы и делятся (одновременно с клеткой) сразу, без видимого образования веретена. Если в клетке содержится более одного хроматинового тельца, то все они, по-видимому, бывают одинаковыми; однако обычно в клетке имеется только одно такое тельце, образованное одной гигантской молекулой ДНК [279], один конец которой прикреплен к плазматической мембране [250].

### *ж. Вирусы*

Вирусы представляют собой неклеточные формы жизни, структурно более простые, чем бактерии. По величине и форме они довольно сильно варьируют — от мелких округлых частиц диаметром 200 Å до длинных палочковидных частиц (10 000–100 Å) или сфероидов диаметром 3000 Å.

Инфекционный вирус, который обычно существует вне клетки, содержит «ядро», состоящее либо из ДНК, либо из РНК, одетое защитной капсулой (капсид); капсид построен из одного, иногда — из двух белков. Оба эти компонента отличаются высокоупорядоченным расположением, характерным для каждого типа вирусов. Так, например, у вирусов кори и гриппа длинная спираль ДНК располагается в трубке, построенной из белка, и вся эта структура (спирально закрученная) заключена в липопротеидную мембрану. У некоторых вирусов ДНК двухцепочечная, тогда как у других — одноцепочечная. Более крупные вирусы содержат, кроме того, липиды, которые, по-видимому, участвуют в регуляции проникновения вирусов через клеточную мембрану (см. выше, разд. б).

У вирусов отсутствуют системы, вырабатывающие энергию. Бактериофаги содержат алифатические диамины, такие, как путресцин  $[H_2N(CH_2)_4NH_2]$  и спермидин  $[H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2]$ , в количествах, достаточных для нейтрализации от 30 до 50% всей ДНК. Эти вещества играют, по-видимому, роль стабилизаторов складчатой структуры ДНК [955]. Однако это катионы

песпецифического действия: оказалось, что их можно заменить избытком ионов магния, не нарушая нормальных функций [65]. Многие другие вирусы, например вирус полиомиелита и вирус табачной мозаики, не содержат этих органических оснований.

Истинные вирусы, лишенные, естественно, клеточной оболочки, не содержат и мурамовой кислоты. Присутствие этой кислоты в организмах, относящихся к группе возбудителей лимфогранулемы и пситтакоза, заставило пересмотреть вопрос о принадлежности этих микроорганизмов к вирусам и квалифицировать их как бактерии.

Некоторые из типичных вирусов, например миксовирусы, вызывающие грипп, чуму птиц и пьюкаслскую болезнь, содержат фермент нейраминазу. Этот фермент гидролизует N-ацетилнейраминную кислоту — вездесущий гликопептид, содержащийся в слизи [445]. Предполагают, что у других вирусов могут встречаться другие ферменты. В некоторых вирусах содержатся углеводы [63]. В вирусах группы оспы часто находят медь. Еще десять лет назад представление о структуре вирусов было достаточно примитивным: предполагалось, что в их состав входят только один белок и одна нуклеиновая кислота. С тех пор положение вещей сильно изменилось, и в настоящее время вопрос о структуре вирусов представляется сложным и интересным.

При заражении клетки вирусом в нее проникает вирусная нуклеиновая кислота (именно она является инфицирующей частью вируса). Эта чужеродная нуклеиновая кислота не только обеспечивает воспроизводство вирусов из промежуточных продуктов метаболизма клетки-хозяина, но способна так перестроить систему метаболических процессов клетки, чтобы в ней производились новые промежуточные продукты, которые могут потребоваться для воспроизводства вирусов.

Бактериофаги — вирусы, поражающие бактерии, — имеют крайне характерную форму: они построены из головки и хвоста. Головка фага T2 содержит одну молекулу ДНК (молекулярный вес  $10^8$ ) весом  $2 \cdot 10^{-10}$  мкг, состоящую из  $2 \cdot 10^5$  пар нуклеотидов. Такая молекула представляет собой компактно уложенную структуру примерно сферической формы. Окруженная плотно упакованными (не имеющими генетической функции) молекулами белка, она и составляет то, что называют «головкой» фага. К головке присоединен «хвост», состоящий из пяти структур: 1) внешнего чехла, состоящего из сократимого миофинопоподобного белка, соединенного со 110 молекулами АТФ; 2) твердого стержня; 3) концевой участка, представляющего собой усуженную шишам пластинку; 4) нескольких молекул эндолизина — фермента, сходного с лизоцимом, и 5) группы нитей, обвивающих дистальный конец хвоста. Незаменимым компонентом капсида некоторых бактериофагов служит птероилпентаглутаминовая кислота (представитель семейства фолиевых кислот) (гл. 6, разд. 3, а) [845].

Предполагается, что проникновение фага в бактериальную клетку начинается с электростатического притяжения, возникающего между тиюэфирной группой в кончике хвоста фага и катионами цинка в оболочке бактериальной клетки, с последующим гидролизом эфира, в котором, возможно, какую-то роль играет хелатообразование [846]. После разрушения кончика хвоста, ранее прикрывавшего эндолизин, последний вступает в игру, деполимеризуя гликопептиды, входящие в состав оболочки бактериальной клетки. Вслед за этим сокращается миофинопоподобный чехол, и твердый стержень фага протыкает оболочку бактерии, так что фаговая ДНК проникает в цитоплазму [670, 936]. О структуре и действии вирусов, атакующих бактерии, см. в [1370].

Вирус на протяжении лишь небольшой части своего жизненного цикла находится вне клетки, и на этой стадии он очень чувствителен к воздействию химических веществ, даже разбавленного раствора мыла. Однако эффективное лечение вирусных заболеваний окажется возможным только

тогда, когда будут найдены способы убивать вирусы, паразитирующие в клетке, не затрагивая при этом незараженные клетки хозяина. В настоящее время известны очень немногочисленные противовирусные лекарственные препараты (метиазон или марборан, 5-иодезоксиуридин и 1-амидоадамантан). Это можно считать успехом, и в совокупности с новыми сведениями, позволяющими судить о морфологической (и биохимической) сложности вирусов, дает основания с большим оптимизмом относиться к возможности использования принципа избирательной токсичности в этой области.

#### 4. Биохимические различия как основа избирательности

Из трех подходов к избирательности, перечисленных в разд. 1, пока что наиболее плодотворным оказался биохимический. Оглядываясь назад, нельзя не удивляться тому, как медленно шло развитие сравнительной биохимии. Книга Болдуина «Введение в сравнительную биохимию» [99], открывшая многим глаза на возможности и значение этой области науки, вышла впервые в 1937 г. Эта книга затем переиздавалась [98]. Однако только в последние 10—15 лет сравнительная биохимия привлекла к себе ведущие силы современной биологии. Как уже отмечалось в разд. 1, в настоящее время работа в этой области научных исследований развивается успешно и плодотворно. Последующее изложение начнется с обсуждения нуклеиновых кислот, ибо «ДНК создает РНК, а РНК создает белки» (Ж. Бранше). Эти взаимоотношения сейчас воспринимаются как нечто само собой разумеющееся, но в 40-х гг. подобное высказывание звучало совершенно фантастически.

##### а. Нуклеиновые кислоты

**Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК).** Эта наиболее важная из нуклеиновых кислот встречается в митохондриях и хлоропластах (разд. 3, г), но в преобладающих количествах она содержится в ядре. Обычно ДНК состоит из двух цепей, закрученных вместе в спираль (фиг. 6). Установлено,

Фиг. 6. Часть спирали ДНК.

Ф — фосфорная кислота; С — сахар (дезоксирибоза); Т — тимин; А — аденин; Г — гуанин; Ц — цитозин.

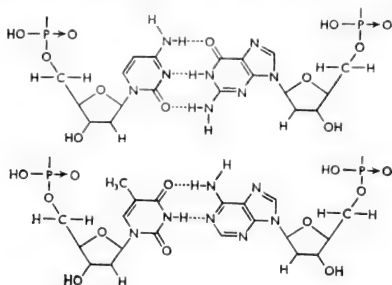


что вся генетическая информация, заключенная в клетке, содержится в клеточной ДНК, в которой она записана в виде линейной последовательности пиримидиновых и пуриновых оснований. Каждая цепь имеет как бы остов, состоящий из остатков дезоксирибозы и фосфорной кислоты; к этому остову присоединены основания. Обе спирально закрученные цепи скреплены друг с другом водородными связями, которые образуются между основаниями [1498]. На фиг. 7 показана структура одного из витков спирали (цепи этой спирали удерживаются вместе главным образом за счет многочисленных водородных связей).

Структура молекулы ДНК имеет теснейшую связь с двумя ее главными функциями: функцией репликации генов (путем синтеза ДНК) и функцией выражения генов (путем синтеза РНК). В процессе репликации генов обе цепи ДНК играют роль матриц для синтеза новых цепей ДНК, и в конце концов каждая из цепей исходной ДНК включается в разные двойные спи-

рали дочерних молекул ДНК [989]. В процессе же выражения генов синтез РНК происходит под управлением только одной из нитей ДНК [942].

Несколько слов о размерах нуклеиновых кислот. Молекулярный вес различных ДНК, полученных из многочисленных источников, — от млекопитающих до бактерий, варьирует в пределах от 10 до 100 млн. Палочковидные молекулы ДНК имеют около 3  $\mu$ к в длину и 18 Å в поперечнике. Расстояние между плоскостями пиримидиновых и пуриновых оснований по вертикали (измеренное между центрами их молекул) составляет около 3,3 Å, так что свободного пространства между основаниями нет [785].



Фиг. 7. Расположение пуриновых и пиримидиновых оснований в молекуле ДНК.

Пуриновые и пиримидиновые основания планарны, причем парные основания расположены в одной плоскости друг с другом, а также с С-1' и С-4'-атомами сахара, с которыми они связаны. Сами же молекулы сахара располагаются почти под прямым углом к плоскости оснований.

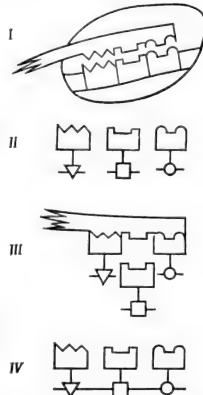
ДНК синтезируется в ядре из мононуклеотидов с помощью фермента ДНК-полимеразы. Однако для иницирования этого синтеза требуется наличие «затравки», т. е. некоторого количества синтезированной ранее ДНК. Известны вещества, ингибирующие синтез ДНК благодаря тому, что они способны соединяться с затравкой, выводя ее таким образом из строя (см. ниже, например, акридины и флеомидин).

Двойная спираль ДНК тесно связана с группой белков, обладающих основными свойствами, известных под названием гистонов, которые располагаются в бороздках спирали, образуя при этом компактную, тесно скрученную структуру [1538]. Предполагается, что в процессе синтеза РНК (или новой ДНК) полимеразы располагаются в этих бороздках [1181].

**Рибонуклеиновые кислоты (РНК).** ДНК служит, по-видимому, той матрицей, на которой синтезируется по меньшей мере 4 типа РНК, сходных с ДНК, но обладающих меньшим молекулярным весом (чаще всего около 1 млн.) и содержащих урацил вместо тимина и рибозу вместо дезоксирибозы. Кроме того, только часть молекул РНК имеет спиральную структуру. Эти 4 типа РНК следующие. Прежде всего назовем РНК ядрышка, о которой мало что известно. Далее, рибосомная, или рРНК — эта РНК еще недостаточно изучена; известно, что в более высокополимерных рРНК присутствуют метилированные пуриновые и пиримидиновые основания. И рРНК, и тРНК (о которой речь пойдет ниже) синтезируются в организме из неметилированных оснований. Метилирование происходит на более поздней стадии под действием ферментов; известно не менее десяти таких ферментов. Они бывают разными у разных видов, и поэтому число и распределение метилированных

оснований различны, хотя у каждого данного вида они постоянны [198, 344]. Третий тип РНК, синтез которой определяет ДНК, — это информационная РНК (иРНК); в действительности это целое семейство РНК, и каждый его представитель является точной копией той части ДНК, которая содержит информацию, требующуюся клетке в данный момент по ходу метаболического процесса [217, 1469]. Эта информационная РНК быстро перемещается к рибосомам, там она определяет последовательность связанных с тРНК аминокислот (см. ниже), специфичную для того или иного белка (фермента) [692], и вскоре после этого покидает рибосому и разрушается (что касается рРНК, назначение которой неизвестно, то она находится в рибосоме длительное время).

Код, определяющий выбор аминокислоты в зависимости от последовательности расположения триплетов оснований в иРНК, в настоящее время расшифрован; известно 64 триплетных кодона [1061]. Хорошо изучена вирусная информационная РНК; что касается других типов РНК, то они в процессе выделения обнаруживают склонность к гидролитическому расщеплению. В состав иРНК в основном входит, по-видимому, всего четыре осно-



Фиг. 8. Роль иРНК и тРНК в синтезе белка (схема).

I — ДНК синтезирует иРНК в клеточном ядре; эта иРНК перемещается к рибосомам; II — тРНК, которых известно около 24 разновидностей, активируют аминокислоты, этерифицируя их; III — эти эфиры аминокислот пристраиваются к иРНК на рибосомах; IV — аминокислоты связываются между собой, образуя белок, а транспортные РНК используются вновь.

вания: урацил, аденин, гуанин и цитозин (у некоторых бактериофагов цитозин частично замещен 5-оксиметилцитозином).

Четвертый вид РНК — транспортная, или тРНК. Ее иногда называют растворимой РНК; она имеет сравнительно низкий молекулярный вес (около 20 000) и содержит всего около 80 нуклеотидных остатков, поэтому и растворима сильнее, чем другие РНК. Существует более 20 разновидностей этой РНК — каждая из них специфически реагирует только с одной аминокислотой, образуя с ней сложный эфир. Эти эфиры притягиваются рибосомами в порядке, предопределенном информационной РНК, которая в данный момент проходит через рибосому. Рибосома способна, используя энергию гуанозинтрифосфата, осуществлять присоединение каждой новой аминокислоты к терминальной карбоксильной группе растущей полипептидной цепи. Одновременно транспортные РНК из рибосомы отсылаются в цитоплазму за новой порцией эфиров аминокислот [1600]. Все эти процессы схематически представлены на фиг. 8.

Механизм образования пептидной связи состоит, по-видимому, в том, что растущий пептид, связанный с тРНК на «донорном» участке рибосомы, должен переместиться к аминоацил-тРНК, связанной с «акцепторным» участком той же рибосомы. Эта реакция катализируется ферментом пептидилтрансферазой. После того как пептид удлинился таким способом на одну аминокислоту, он снова перемещается затем к донорному участку рибосомы с помощью транслочационного фермента. Вслед затем следующая аминоацил-тРНК связывается с освободившимся акцепторным участком, и все повторяется сначала.

Терминальной группой тРНК всегда служит — ХЦЦА (Ц — остаток цитидиловой и А — остаток адениловой кислоты). Аминокислота этерифи-

цируется по 3'-гидроксильной группе аденозина в адениловой кислоте. Последовательность нуклеотидов в участке «Х», ближайшем к цитидиловой кислоте как для валил-, так и для лейцил-тРНК различна у дрожжей и у крыс [757]. Существование таких видовых различий является, по-видимому, общим правилом.

Аланинспецифичная тРНК дрожжей была первой тРНК (и вообще первой нуклеиновой кислотой), для которой была полностью установлена последовательность всех нуклеотидов [715]. Общее число ее нуклеотидов — 77, мол. вес 26 600; часть молекулы, имеющая структуру двойной спирали, очень невелика. Десять нуклеотидов этой РНК содержат необычные основания: гипоксантин, 1-метилгипоксантин, 1-метилгуанин, 2-диметилгуанин, тимин (здесь он в отличие от ДНК связан с рибозой), дигидроурацил (3 раза) и урацил, с которым рибоза связана не по атому азота, а по атому  $C_{(5)}$  (дважды).

Вслед затем были проанализированы еще две тРНК, выделенные из дрожжей, — обе серинспецифичные. Было обнаружено, что они содержат по 84 нуклеотида каждая. Их строение оказалось непохожим на строение аланинспецифичной тРНК. В этих тРНК были обнаружены следующие необычные основания: гипоксантин, тимин, дигидроурацил, N-6-изопентиладенин, урацил (соединенный с рибозой по атому  $C_{(5)}$ ), 5-метилцитозин, 6-ацетилцитозин, 2-диметилгуанин и 2 молекулы O-метилрибозы [1598]. Между прочим, оказалось, что изопентиладенин очень эффективен как стимулятор деления клеток у растений [636]. В настоящее время установлена последовательность нуклеотидов еще в нескольких тРНК; все они, по-видимому, имеют складчатую структуру в форме креста или листа клевера.

**Бактериальные нуклеиновые кислоты.** У бактерий главная составная часть нуклеиновых кислот приходится на долю РНК, а белок, образующий комплекс с ДНК, отличается от такого же белка у высших организмов тем, что не дает обычных тесты на основной белок. На долю РНК может приходиться до 20% сухого вещества бактерий.

Высокомолекулярная РНК бактерий имеет, по-видимому, тот же состав, что и РНК высших организмов; у них одновременно присутствует несколько видов РНК, которые, однако, до сих пор не выделены и не идентифицированы. Что касается ДНК, то у бактерий она бывает, по всей видимости, только одного типа, но отношение оснований в ней значительно варьирует у разных видов бактерий. Это становится очевидным при рассмотрении данных, приведенных в табл. 1: во втором столбце приведены отношения суммы двух амфотерных оснований (гуанин + цитозин) к сумме монофункциональных оснований (аденин + тимин) [148]. Полученные значения варьируют в пределах от 0,45 до 2,80, тогда как у высших животных и растений до сих пор обнаруживались колебания в пределах всего от 0,6 до 0,9 (причем у высших растений четверть всего цитозина замещена метилцитозином). В то время как отношение

Таблица 1

Отношение оснований в ДНК бактерий [148, 679]

Вид	Гуанин+Цитозин Аденин+Тимин	Вид	Гуанин+Цитозин Аденин+Тимин
<i>Clostridium perfringens</i>	0,45	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,20
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,53	<i>Azotobacter spp.</i>	1,28
<i>Pasteurella tularensis</i>	0,53	<i>Brucella abortus</i>	1,37
<i>Proteus vulgaris</i>	0,68	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,03
<i>Escherichia coli</i>	1,09	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2,08
<i>Shigella dysenteriae</i>	1,14	<i>Actinomyces spp.</i>	2,80
<i>Salmonella typhosa</i>	1,14		

(гуанин + цитозин)  
(аденин + тимин)

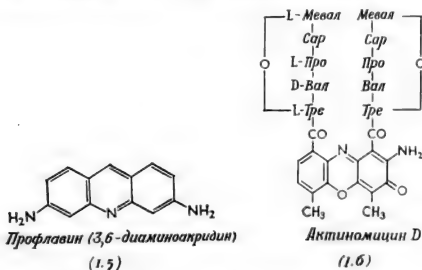
у бактерий варьирует столь сильно, отношение  $\frac{\text{пурины}}{\text{пиримидины}}$  остается равным единице.

Отношение  $\frac{G+C}{A+T}$  определялось также для простейших (у жгутиковых — в пределах от 0,85 до 1,56; у ресничных инфузорий — от 0,28 до 0,54), грибов (от 0,56 до 1,17), водорослей (от 0,56 до 2,00) и беспозвоночных (от 0,50 до 0,78) [1275, 1391].

В ДНК бактерий и вирусов обнаружены небольшие количества необычных пуриновых и пиримидиновых оснований, например рибозид-2-метилгидантин у *E. coli* [919] и 5-оксиметилцитозин вместо цитозина у некоторых фагов, заражающих *E. coli* [1585]. У фага, поражающего *Bacillus subtilis*, весь тимин замещен 5-оксиметилурацилом [793]. Некоторые фаги имеют одноцепочечную ДНК [1335].

**Вещества, ингибирующие синтез нуклеиновых кислот.** Аминоакридины, например профлавин (1.5), ингибируют биосинтез ДНК, соединяясь не с ферментом ДНК-полимеразой, а с ДНК-затравкой, которая играет роль активатора фермента. В более высоких концентрациях аминоакридины нарушают и нормальное функционирование ДНК-полимеразы [736]. Механизм этого ингибирования состоит, вероятно, в том, что молекулы аминоакридина проникают между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями и располагаются там так, как это описано в гл. 8, разд. 3, б, в связи с описанием аналогичного по механизму антибактериального и антипротозойного действия аминохинолинов и аминофенантридинов.

Актиномицины представляют собой группу антибиотиков, выделенных Ваксманом и Вудрефом в 1940 г. Вещества эти ярко-красного цвета. По структуре они представляют собой производные аминофеноксина, содержащие две циклические пентапептидные боковые цепи [226]. Из них наибольшее употребление получил актиномицин D (1.6). Это самый специфичный из всех суще-



ствующих ингибиторов синтеза РНК, зависящего от ДНК-затравки. Опыты с радиоактивным актиномицином показали, что он ковалентно связывается с гуанином этой ДНК, не реагируя ни с одним другим компонентом клетки при тех концентрациях, при которых происходит блокирование синтеза РНК. Собственно синтез ДНК он не блокирует [1482]. Исходя из данных рентгеноструктурного анализа в сочетании с экспериментами по построению молекулярных моделей, можно сделать предположение, что актиномицин располагается в *мелкой бороздке* спирали ДНК, с которой он способен образовывать целых 7 водородных связей (гл. 5, разд. 1). Таким образом, действие актиномицина не обусловлено интеркаляцией, характерной для действия аминоакридинов [639]. В то время как аминоакридины чувствительны к действию ионов магния и нечувствительны к мочеvine, для актиномицина характерно как раз

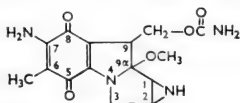
обратное. И далее, актиномицин в отличие от профлавина неспособен ингибировать синтез полинуклеотидов, в которых отсутствует гуанин.

Начиная с 1964 г. актиномицин выпускают под торговым названием «дектиномицин» для лечения метастазирующей опухоли почек (опухоль Вильмса). В случаях рака, требующих длительного лечения, этот препарат непригоден, так как токсичен и для нормальных тканей.

Афлатоксин, кислородсодержащее гетероциклическое соединение, образующееся в земляных орехах, зараженных грибом, вызывает обширный некроз печени у домашних животных. Токсическое действие афлатоксина связано с его способностью соединяться с ДНК и таким образом ингибировать синтез информационной РНК [326].

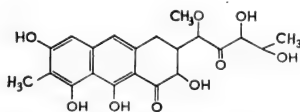
Митомицин С (1.7), выделенный из одного вида *Streptomyces*, действует как алкилирующий агент после того, как он деметилируется в живой клетке. Следовательно, он ингибирует синтез ДНК (только *in vivo*), ковалентно связывая поперечными связями две цепи спирали (гл. 10, разд. 4) [762, 1401, 1508].

Хромомицин А<sub>3</sub> представляет собой тетрасахарид хромомицинона (1.8), по структуре несколько напоминающий тетрациклин (9.49). По-видимому, он ингибирует ДНК-зависимый синтез РНК [793]. Его используют в экспериментах и с осторожностью при лечении рака, так же как и его аналоги оидомицин и митромицин.



Митомицин С

(1.7)



Хромомицинон

(1.8)

Стрептонигрин — пиридилхинолиновый антибиотик [1176] — и родственные ему в структурном отношении брунеомицин тормозят синтез ДНК, а также катализируют ее разложение в бактериальных клетках.

Флеомицины — группа структурно близких друг другу полипептидных антибиотиков (примерно около 10), выделенных из *Streptomyces verticillus* [1406]. Они ингибируют синтез ДНК, связывая ДНК-затравку в концентрациях, при которых не нарушается синтез РНК или белка [498].

Оксимочевина обратимо тормозит синтез ДНК [1332].

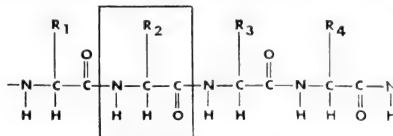
Более подробные сведения о нуклеиновых кислотах читатель найдет в [216, 784].

## 6. Белки

Белки — это линейные ангидросополимеры, в состав которых входит примерно 20 разных аминокислот с одинаковой оптической конфигурацией (гл. 11, разд. 1). Во всех живых клетках синтез белков основан на матричном механизме (см. выше, разд. а). Мол. вес белков варьирует от 15 000 до вели-



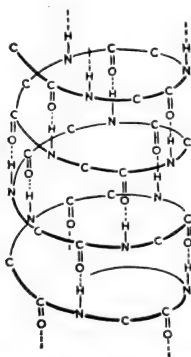
чины, превышающей 1 млн., но все они имеют общую структуру, схематически изображенную на фиг. 9.  $R_1$ ,  $R_2$  и т. д. — это довольно простые заместители, например метильная (для аланина) или *n*-оксисбензильная группа (для тирозина). Участок, ограниченный на фиг. 9 прямоугольной рамкой, представляет собой повторяющуюся структурную единицу, в которой меняются только группировки R. Впервые полная аминокислотная последовательность была определена для инсулина. В настоящее время установлена полная аминокислотная последовательность фибрина, рибонуклеазы, белка вируса табачной



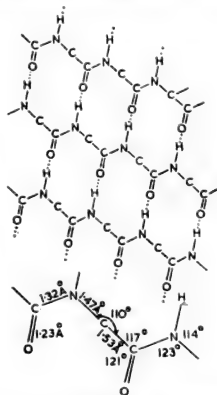
Фиг. 9. Линейное изображение скелета полипептидной структуры белка.

мозаики, лизоцима, бычьего химотрипсина, миоглобина и некоторых других белков. Во многих других белках установлен порядок расположения аминокислот для отдельных достаточно длинных участков цепи.

Последовательность остатков аминокислот в молекуле белка определяет генетическую информацию, заложенную в клеточной ДНК, через посред-



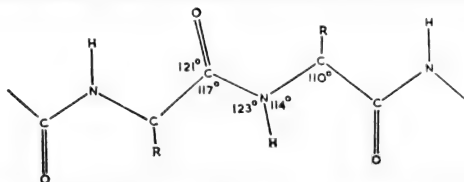
Фиг. 10. Спираль, образуемая молекулой белка (типичная вторичная структура).



Фиг. 11. Детали вторичной структуры белковой спирали. Внизу: участок первичной структуры полипептидной цепи, соответствующий изображению в верхней части рисунка.

ство информационной и транспортной РНК (разд. 3, д. 4, а). Последовательность аминокислот в белке носит название «первичной структуры». Полипептидная цепь закручена (обычно почти вся) в правую спираль ( $\alpha$ -спираль) — вторичная структура. В такой спирали на каждый виток приходится по 3,7 аминокислотных остатка (фиг. 10). Эта вторичная структура характер-

на как для глобулярных, так и для фибриллярных белков. На фиг. 11 вторичная структура показана в деталях; в нижней части фиг. 11 воспроизведена первичная структура данного участка цепи [1109]. Угол между  $N-C$  и  $C-C'$ -связями в цепи  $N-C$  составляет  $110^\circ$ . Следовательно, цепь вовсе не прямолинейна, как это может показаться, судя по приведенной схеме.

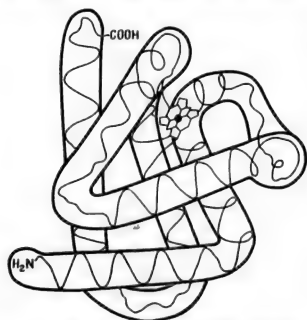


Фиг. 12. Участок первичной структуры полипептидной цепи, изображенный по-иному, чем это сделано на фиг. 11.

Чтобы показать это наглядно, первичная структура изображена на фиг. 12 по-иному. Все атомы  $O=C-NH$  цепи лежат в одной плоскости вследствие делокализации электронов на этом участке молекулы.

Данные о вторичной структуре были получены как методом рентгеновской кристаллографии, так и путем исследования дисперсии оптического вращения, а также путем определения числа атомов водорода, которые медленно обмениваются на дейтерий из  $D_2O$  (т. е. тех атомов водорода, которые участвуют в образовании межспиральных связей в ДНК).

Эти спирали существуют в виде длинных нитей, которые складываются на себя, так что получаются неправильной формы петли, характерные для третичной структуры. Связи, стабилизирующие третичную структуру, могут быть и ковалентными (дисульфидные), и ионными, и водородными. Третичная структура впервые была выяснена для миоглобина и гемоглобина в результате рентгеноструктурных исследований Кендрию и Перутца. На фиг. 13 изображена третичная структура миоглобина. Молекула компактна и содержит небольшое количество воды внутри. Почти все полярные группы ( $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-CO_2H$ ) обращены наружу, а те из них (весьма немногочисленные), которые «спрятаны» внутри, выполняют, по-видимому, какую-то биологическую функцию.



Фиг. 13. Третичная структура молекулы миоглобина (схема).

Порфириновый компонент молекулы расположен справа вверх [1130].

Взаимодействие между соседними участками в третичной структуре осуществляется главным образом за счет вандерваальсовых сил, число которых значительно превосходит число всех остальных связей. Таким образом, они играют главенствующую роль в стабилизации третичной структуры, которая определяется в конечном счете исключительно первичной структурой (т. е. порядком расположения аминокислот) [1130].

В результате аналогичных исследований лизоцима, выделенного из белка куриного яйца, выяснилось, что его третичная структура изнутри по преимуществу

ществу гидрофобна, а снаружи — гидрофильна. Лизоцим расщепляет свой субстрат (мурейн, см. разд. 3, а) с помощью специального активного участка — активного центра, который образуется за счет сближения двух удаленных друг от друга цепей в результате свертывания молекулы с образованием третичной структуры [1139].

Еще один фермент, третичная структура которого также была установлена методом рентгеноструктурного анализа, — это рибонуклеаза. Эта структура компактна, гидрофильна снаружи и гидрофобна внутри; в ней имеется щель, в которую как бы вставляется субстрат. В построении активного центра принимают участие два остатка гистидина (в положениях 12 и 119), которые, не будь третичной структуры, были бы сильно удалены друг от друга [802]. Размеры молекулы рибонуклеазы в сложенном виде составляют  $\sim 30 \cdot 30 \cdot 38 \text{ \AA}$  (мол. вес 15 000). Аналогичным образом была расписана и третичная структура  $\alpha$ -химотрипсина: активный центр образуется за счет сближения остатков двух аминокислот — серина-195, и гистидина-57, находящихся в разных цепях [978]. Третичная структура карбоангидразы человека также была расписана методом рентгеновской кристаллографии. Используя меченый ингибитор, содержащий атом ртути, удалось установить, что активный центр находится в глубокой щели и содержит незаменимый для активности атом цинка [539].

Белки имеют в организме структурную, ферментативную и регуляторную (белок плазмы) функцию. Некоторые ферменты содержатся в клетках в количестве всего нескольких молекул или существуют там только в качестве «информации», т. е. закодированные в ДНК, которая может отдать команду синтезировать эти ферменты в тот момент, когда они нужны клетке. Однако некоторые ферменты составляют до 50% сухого вещества клетки, например миозин (аденозинтрифосфатаза) в мышечных клетках. Дополнительно по вопросу о ферментах см. гл. 6, введение.

Гомологичные (т. е. выполняющие одинаковые функции у разных организмов) белки обнаруживают резко выраженные видовые различия. Так, например, у семи видов млекопитающих в качестве N-терминальных аминокислотных остатков в молекуле фибриногена фигурируют [491]:

Вид	N-концевые аминокислоты
Человек	Аланин и тирозин
Свинья	Аланин (дважды) и тирозин
Бык	Глутаминовая кислота и тирозин
Собака и лошадь	Треонин и тирозин
Овца и коза	Глицин, аланин и тирозин

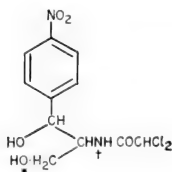
Видовые различия в составе цитохромов обсуждаются в разд. 4, ж.

Более подробные сведения о строении белков см. в [1046].

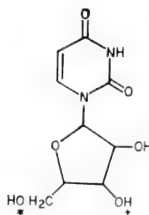
**Вещества, ингибирующие синтез белка.** Хлорамфеникол (1.9) — ценный антибиотик, выделенный в 1947 г. из стрептомицета, в настоящее время получают только синтетическим путем. Он специфически тормозит синтез белка в рибосомах бактерий [559, 646, 1186]. Он значительно более токсичен для бактерий, чем для клеток млекопитающих и грибов. Эти факты указывают на различия (до сих пор не выясненные) в биохимическом синтезе белков у млекопитающих и у бактерий [461].

Хлорамфеникол — это D-(—)-*трео*-2-дихлорацетамидо-1-п-нитрофенилпропан-1,3-диол. Его L-*эритро*-изомер не оказывает влияния на синтез белка, но в отличие от хлорамфеникола обладает способностью тормозить образование D-глутамилполипептида у *B. subtilis* [631]. Два других стереоизомера вообще неактивны. Существует великолепная фотография структурной модели хлорамфеникола [839]. Согласно данным рентгеновской кристаллографии, обе оксигруппы расположены очень близко друг к другу, амидная же группа

направлена в противоположную сторону; вся алифатическая группировка расположена в грубом приближении в одной плоскости, находящейся под прямым углом к плоскости бензольного кольца [447].



Хлорамфеникол  
(1.9)



Уридин  
(1.10)

Антибактериальные свойства хлорамфеникола лишь незначительно меняются при замене нитрогруппы в его молекуле метилмеркаптогруппой ( $\text{CH}_3\text{S}-$ ), метилсульфонильной группой ( $\text{CH}_3\text{SO}_2-$ ) или сульфамидогруппой ( $\text{H}_2\text{NSO}_2-$ ). Отсюда следует, что роль нитрогруппы связана исключительно с ее электроноакцепторными свойствами. Для активности этих структурно измененных молекул необходима именно *D-трео*-конфигурация, так же как и для самого хлорамфеникола [1452]. Даже очень незначительные изменения в структуре алифатической части их молекул (например, замена любого из водородных атомов метильной группой или одного галогена другим) вызывают почти полную утрату активности [342, 507].

Хлорамфеникол быстро поглощается бактериями и концентрируется в 50S-субъединицах рибосом в отношении 1 : 1. Это было показано с помощью меченого  $\text{C}^{14}$ -хлорамфеникола, который вводился в клетку перед тем, как клеточную оболочку разрушали ультразвуком. *L*(+)-энантиомерная форма хлорамфеникола не соединяется с рибосомами [1566]. Изучение хлорамфеникола в интактных клетках *Escherichia coli* при 37° и при 0° показало, что он не оказывает влияния ни на взаимодействие иРНК с рибосомами, ни на инициацию синтеза новых белковых цепей, ни на терминацию синтеза цепей и их отделение от рибосом. Первичный эффект действия хлорамфеникола, возможно, состоит в блокировании присоединения остатков аминокислот к растущим полипептидным цепям, которые в процессе синтеза остаются связанными с рибосомами. При этом не происходит специфичного блокирования включения какой-либо определенной аминокислоты, но отмечается полная остановка синтеза белка уже через несколько минут после введения хлорамфеникола при 0° [396]. Хлорамфеникол не влияет на связывание аминоацил-тРНК с рибосомами [1566].

Активность хлорамфеникола (1.9), возможно, определяется его структурным сходством с уридином (1.10). Сравнивая между собой структурные формулы этих соединений, следует прежде всего отметить, что электронное влияние *п*-нитрофенильной группировки в (1.9) сходно по полярности (хотя и не столь сильно выражено) с эффектом диоксиимидиновой группировки в (1.10). Это подтверждают приведенные ниже значения *pK*, по которым видно, что урацил-6-карбоновая кислота примерно в 100 раз сильнее бензойной [236]:

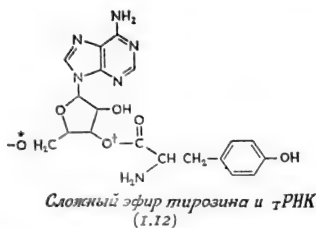
	<i>pK</i>
Бензойная кислота	4,18
<i>m</i> -Нитробензойная кислота	3,49
Урацил-6-карбоновая кислота	2,21

Отмеченные звездочками в формулах (1.9 и 1.10) первичные спиртовые группы — одна из общих черт обоих этих соединений. Спиртовая группа в хлорамфениколе способна фосфорилироваться (как и в уридиловой кислоте). Аминогруппа, отмеченная крестиком в (1.9), расположена так же, как аминогруппа в пуриноиде, однако это могло бы свидетельствовать о сходстве между этими соединениями только в том случае, если бы оказалось, что уридин (или цитидин) способен образовывать с аминокислотами соответствующие сложные эфиры. Согласно гипотезе Ярдецкого [777], который изучал структуру хлорамфеникола методом ядерного магнитного резонанса, хлорамфеникол имеет конформации, очень сходные с конформациями уридин-5'-фосфорной кислоты. Ярдецкий обнаружил также, что существует стерическое сходство в расположении дихлорацетильной группы в хлорамфениколе и фосфатной группы уридин-5'-фосфорной кислоты. Однако другие авторы [396], основываясь на наличии в нем амидной группировки, рассматривают его как стереоспецифический аналог (антиметаболит) аминокислоты.

Известна целая группа антибиотиков, ингибирующих поглощение  $C^{14}$ -хлорамфеникола бактериями, а также изолированными бактериальными рибосомами. Вероятно, всем им соответствует один и тот же активный участок на рибосоме. В эту группу входят линкомицин, олеандомицин и эритромицин. Последние два представляют собой макролиды, т. е. отличны по своей структуре от хлорамфеникола [1565].

Пурамицин (1.11), выделяемый из *Streptomyces alboniger*, а также получаемый синтетическим путем, ингибирует синтез белка, включаясь в растущую полипептидную цепь вместо какого-нибудь аминокислотного остатка. Впервые это было показано в опытах на рибосомах ретикулоцитов кролика [159].

Ярмолинский и сотр. [1592] обратили внимание на поразительное сходство, существующее между пурамицином и эфирами, которые аминокислоты образуют с тРНК. Известно, что концевым основанием во всех тРНК служит аденин, к которому и присоединяются аминокислоты (1.12). В молекуле пурамицина (1.11) в отличие от тирозил-тРНК (1.12) три атома водорода замещены метильными группами. Но главное различие между этими двумя структурами состоит в том, что эфирная группа (на 1.12 отмечена крестиком) замещена в пурамицине амидной группой.

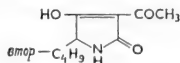


Все имеющиеся данные свидетельствуют о том, что после фосфорилирования пурамицина по месту, отмеченному звездочкой (1.11), он присоединяется к специальному рецептору на рибосоме, предназначенному для акцептирования эфиров аминокислот с тРНК, и вслед затем включается в пептидную цепь, которая на этом заканчивает свой рост [1038].

Бэйкер и сотр. получили множество разнообразных структурных вариантов пурамицина. Было обнаружено, что максимальной активностью (способностью предупреждать включение алифатических аминокислот, например

лейцина) обладают те варианты пурамицина, в которые в качестве аминокислотной части входит какое-либо производное фенилаланина [1039]. Пурамицин и его аналоги применялись при лечении амебиаза [737] и некоторых форм рака, однако действие их оказалось недостаточно избирательным. Пурамицин широко используется в биохимических исследованиях синтеза белка.

Тенуазоновая кислота (1.13), как полагают, препятствует образованию нормальной вторичной структуры вновь синтезированными полипептидными



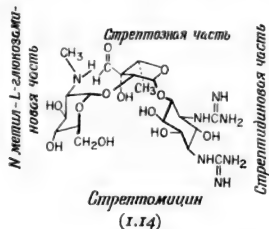
Тенуазоновая кислота

(1.13)

цепями. Если это так, то в данном случае вмешательство происходит на более поздней стадии биосинтеза белка, чем это наблюдается для хлорамфеникола и пурамицина [1314]. Тенуазоновая кислота представляет собой 3-ацетил-5-втор-бутил-4-окси-3-пирролин-2-он; она была выделена из мицелия гриба *Alternaria tenuis* [1378]. Этот антибиотик неактивен в отношении бактерий и дрожжей *in vitro*.

Тетрациклин (9.49) и другие антибиотики группы тетрациклина активны в отношении разных видов грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также спирохет, риккетсий и крупных вирусов. Они широко используются в медицине в качестве антибиотиков с широким спектром действия. Первый из них, хлортетрациклин (ауреомизин), был выделен из *Streptomyces aureofaciens* в 1947 г. Тетрациклины являются хелатообразующими агентами и инактивируются в том случае, если группы, способные связывать легкие металлы, оказываются блокированными или почему-либо отсутствуют (гл. 9, разд. 8). Самое основное в их действии — нарушение процесса синтеза белков в рибосомах [558]. При концентрации тетрациклина, при которой синтез пептидов подавляется почти полностью, отмечается 60%-ное ингибирование присоединения N-ацетилфенилаланил — тРНК к рибосомам, и может стать, что он действует именно на этой стадии [1389]. В опытах с меченным тритием хлортетрациклином было обнаружено, что этот антибиотик связывается исключительно с 30S-субъединицами рибосом *E. coli* [348]. Эффективные бактериостатические концентрации тетрациклинов не ингибируют ни связывание информационной РНК с рибосомами, ни соединение аминокислот с тРНК, ни синтез нуклеиновых кислот.

В связи с высоким содержанием ионов  $\text{Mg}^{2+}$  в рибосомах было высказано предположение, что способность тетрациклинов к хелатообразованию играет некоторую роль в их активности; ясно, что эти антибиотики неспособны полностью удалить из рибосом магний [536], но во всяком случае часть катионов магния они связывают.

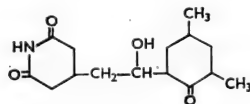


Стрептомицин (1.14) был выделен в 1944 г. из *Streptomyces griseus* Вакманом и его сотрудниками. Он представляет собой N-метил-1-глюкозамидо-стрептозидострептидин, в котором гуанидиновое основание (стрептидин) связано с дисахаридом. Стрептомицин обнаруживает активность по отношению к многим грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам. Активность стрептомицина снижается в присутствии крови, гноя и сыворотки. Наиболее важная область его применения — лечение туберкулеза у людей. Грибы, простейшие, риккетсии, вирусы и высшие растения нечувствительны к действию стрептомицина.

Стрептомицин тормозит синтез белка у бактерий и не влияет на этот процесс у позвоночных. Он проникает в бактериальные клетки довольно сложным путем, который описан в гл. 12, разд. 2. В клетке стрептомицин связывается (в количестве 1 молекулы на рибосому) с 30S-субъединицей комплекса иРНК-рибосома и, по-видимому, вытесняет катионы магния [407, 644]. В экспериментах с бесклеточными системами, в которых присутствовали бактериальные рибосомы и полиуридиловая кислота (вместо природной иРНК), действие стрептомицина выражалось в нарушении считывания генетической информации. Полиуридиловая кислота в норме кодирует фенилаланин, а в присутствии стрептомицина — изолейцин [407, 1359]. Если бы такое произошло в интактной бактериальной клетке, то клетка оказалась бы заполненной неполноценными белками и нежизнеспособной. Однако до сих пор такие случаи не наблюдались. Были выведены штаммы стрептомицинзависимых бактерий. Предполагают, что у таких мутантов имеется наследственный дефект в системе кодирования, корректируемый стрептомицином [223].

Стрептомицин оказывается летальным только для тех клеток, в которых идет интенсивный синтез белка. Поэтому некоторые другие ингибиторы синтеза белка (например, хлорамфеникол и тетрациклин) способны снимать действие стрептомицина. Рибосомы, выделенные из штаммов бактерий, устойчивых к стрептомицину, стрептомицинрезистентны. В экспериментах по расщеплению 70S-рибосом с последующей рекомбинацией с другими субъединицами выяснилось, что за резистентность этих рибосом ответствен их 30S-компонент [407].

Дигидрострептомицин в стрептозной части молекулы содержит вместо альдегидной первичную спиртовую группу. В качестве антибактериального агента он эквивалентен стрептомицину, однако последний обладает еще и противовирусным действием, оказываясь активным в отношении некоторых бактериофагов [81].



Циклогексими́д (актидион)  
(1.15)

Циклогексими́д (1.15), выделенный из *Streptomyces griseus*, обнаруживает высокую активность в отношении дрожжей и других грибов, но в большинстве случаев хорошо переносится, даже в высоких концентрациях, бактериями. Он тормозит синтез белка в изолированных рибосомах грибов, высших растений и млекопитающих, но не действует на рибосомы, выделенные из бактерий [1318]. Наблюдаемое ингибирование синтеза нуклеиновых кислот, по-видимому, носит вторичный характер. Циклогексими́д используется как фунгицид (гл. 3, разд. 4).

### в. Метаболизм азота и фосфора

У бактерий были обнаружены некоторые необычные аминокислоты (разд. 3, а), а также необычные пути биосинтеза обычных аминокислот. Так, у растений и бактерий лизин образуется в результате декарбоксилирования диаминопимелиновой кислоты, а у грибов и млекопитающих — из 2-аминоадипиновой кислоты [1466]. В составе активных компонентов клетки аминокислоты D-ряда ни разу не удалось обнаружить ни у одного из живых организмов, занимающих в эволюционном ряду место выше земляного червя (*Lumbricus terrestris*), в котором найден фосфаген ломбрицин (O-фосфодифир гуанидиноэтанол и D-серина [480]).

У бактерий и растений ароматические аминокислоты фенилаланин и триптофан образуются из шикимовой кислоты (3,4,5-триоксицикло- $\Delta^1$ -en-1-карбоновая кислота), тогда как млекопитающие неспособны синтезировать бензольное кольцо и, следовательно, должны обе эти кислоты получать с пищей; в то же время окислять фенилаланин в тирозин они оказываются способными [571]. У растений из шикимовой кислоты вырабатываются галлотаннины, а у насекомых — протокатеховая (3,4-диоксibenзойная) кислота, которая окрашивает белок, входящий в состав их наружного покрова. О биосинтезе белка речь шла в разд. 3, д.

Некоторые необычные пурины и пиримидины, входящие в состав нуклеиновых кислот, упоминались в разд. 4, а; сейчас регулярно появляются сообщения об открытии новых соединений, принадлежащих к этому классу. О синтезе пуринов речь пойдет в гл. 6, разд. 3, б.

Конечные продукты азотистого обмена гораздо более разнообразны, чем продукты жирового или углеводного обмена. По степени сложности они очень различны — от аммиака до алкалоидов. В табл. 2 приводятся конечные продукты обмена белков и пуринов у позвоночных; не меньшее разнообразие наблюдается и у более просто организованных живых форм.

Таблица 2

#### Конечные продукты метаболизма пуринов и белков у различных позвоночных [99]

Позвоночные	Конечные продукты белкового обмена	Конечные продукты обмена пуринов
Рыбы (костистые)	Аммиак	Мочевина
Земноводные	Мочевина	Мочевина
Пресмыкающиеся (змеи)	Мочевая кислота	Мочевая кислота
Птицы	Мочевая кислота	Мочевая кислота
Человек и высшие обезьяны	Мочевина	Мочевая кислота
Другие млекопитающие	Мочевина	Аллантоин

Еще более удивительно то, что даже в пределах одного вида могут наблюдаться значительные различия в составе конечных продуктов азотистого обмена, в зависимости от стадии развития животного. Например, из данных, приведенных на фиг. 14, явствует, что куриный зародыш в яйце проходит последовательно стадии развития, на которых в качестве конечного продукта азотистого обмена выделяется аммиак (как у рыб), мочевина (как у лягушки) и мочевая кислота (как у птиц), и все это происходит в течение всего нескольких дней. Этот пример позволяет понять, почему для борьбы с паразитами на разных стадиях развития необходимо применять различные избирательно действующие токсические вещества. Так, например, половые формы *Plasmodium vivax* чувствительны только к замещенным 8-аминохинолинам (например, к примахину), тогда как бесполое формы, хотя они и сосущест-

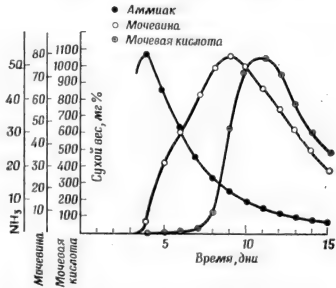


вуют с половыми в эритроцитах человека, чувствительны к лекарственным веществам с резко отличной структурой, например к хлорохину (8.28).

Аммиак образуется во всех живых клетках в результате дезаминирования (окислительного или неокислительного) аминокислот, амидов и аминов. Помимо этого, у микроорганизмов и растений он образуется с помощью ферментов аспартазы и нитратредуктазы. Растения и микроорганизмы могут

Фиг. 14. Выделение азота (эмбрион цыпленка, по Нидхэму) [98].

Соединение, выделяемое в максимальном количестве	Время после оплодотворения (в днях)
Аммиак	4
Мочевина	9
Мочевая кислота	11



использовать в качестве источника азота не только аммиак, но и другие неорганические азотистые соединения, а некоторые микроорганизмы способны утилизировать молекулярный азот (N<sub>2</sub>). Цикл мочевины, по-видимому, одинаков у всех видов клеток.

Для накопления и переноса энергии все клетки используют АТФ, тогда как вторичные фосфагены могут быть различными у разных организмов. Фосфокреатин, единственный фосфаген позвоночных, у беспозвоночных встречается очень редко; фосфоаргинин распространен у беспозвоночных гораздо чаще, чем фосфокреатин; очень немногие из беспозвоночных животных содержат оба эти фосфагена. В пределах каждого типа организмов существуют различия в распределении обоих этих фосфагенов, часто даже между очень близкими видами и, более того, между различными тканями одного и того же организма [525]. Имеются совсем редкие фосфагены, например фосфогуанидоуксусная кислота, фосфогуанидотурин и ломбрицин (см. выше), встречающиеся только у очень немногочисленных беспозвоночных. О распространении еще одного возможного фосфагена — полифосфорной кислоты — см. разд. 3, д.

## г. Углеводный и жировой обмен

Гликолиз, т. е. превращение глюкозы (или гликогена) в молочную кислоту, происходит во всех живых клетках по схеме, открытой Мейергофом, Эмденом, Парнасом и Кори (фиг. 15). При этом кислород не используется, а восстанавливается никотинамидадениндинуклеотид (НАД), тогда как глицеральдегид-3-фосфат (анион) окисляется с образованием фосфоенолпирувата. Возникающий в результате НАД·Н используется затем для восстановления пирувата в лактат. Процесс гликолиза протекает по меньшей мере в одиннадцать стадий, и на каждой стадии функционирует особый фермент. Суммарный энергетический баланс выражается в образовании 2 (и 3) молекул АТФ на каждую молекулу используемой глюкозы (или соответственно гликогена).

За счет такого анаэробного обмена животные клетки могут существовать недолго. При свободном доступе кислорода пирувиноградная кислота превращается уже не по схеме Мейергофа, а включается в цикл трикарбоновых

кислот (разд. 4, д), полностью окисляясь с образованием двуокиси углерода и воды. Разложение глюкозы может происходить и другим путем, через стадию образования пентозофосфата, например у бактерий (см. ниже). Относительная значимость обоих этих путей для позвоночных животных еще не выяснена.

Скорость анаэробного и аэробного гликолиза в тканях злокачественных опухолей необычно высока, хотя ферменты в этом случае ничем (даже серологически) не отличаются от ферментов в обычных тканях<sup>1)</sup>. Сравнительно-биохимические исследования нормальных и злокачественных клеток позволили выявить очень мало сколько-нибудь значительных различий между ними



Фиг. 15. Анаэробный гликолиз (путь Эмбдена — Мейергофа).

как в отношении гликолиза, так и в других отношениях [615]. Однако Варбург в 1927 г. [1487] показал, что в раковых клетках окислительное фосфорилирование протекает менее, а гликолиз более интенсивно, чем в нормальных клетках. Оказалось также, что при раке грудной железы у мышей синтез НАД в злокачественных клетках протекает со значительно меньшей скоростью, чем в клетках ткани нормальной железы [215].

В мышцах насекомых гликолиз следует схеме Мейергофа лишь до стадии образования пирувата; НАД·Н, образовавшийся в процессе окисления триозофосфата, по-видимому, вновь окисляется в результате восстановления диоксиацетонфосфата в глицерофосфат [303].

<sup>1</sup> В. С. Шапот в настоящее время развивает изоферментную теорию гликолиза в опухолевых клетках (Вестник АМН СССР, № 3, 11, 1968).— Прим. ред.

Из сахаров в протоплазме насекомых содержится главным образом  $\alpha$ , $\alpha$ -трегалоза (дисахарид глюкозы), играющая основную роль в системе транспорта глюкозы у них [1586]. Обзор по биохимии насекомых см. в работе [592].

Для *паразитических* червей характерны высокая интенсивность углеводного обмена и неполное окисление субстрата, независимо от того, в каких условиях они обитают — анаэробных (паразитирующие в кишечнике глисты) или аэробных (шистосомы). Путь Мейергофа — главный метаболический путь утилизации углеводов у червей. При этом образуются многочисленные отходы, например ацетилметилкарбинол, янтарная кислота или одна из летучих монокарбоновых кислот. Трегалоза (см. выше) играет важную роль в углеводном обмене у паразитических червей. Обзор по биохимии паразитических червей — см. [962].

Многие *простейшие* способны использовать в качестве источника энергии кислоты (эндогенные), но не углеводы. У них отсутствует гексокиназа, а энергетическим резервом у них служит накопленный крахмал. Другие простейшие (в том числе трипаносомы) утилизируют экзогенную глюкозу по схеме Мейергофа и не накапливают углеводы. У них отсутствует лактатдегидрогеназа, поэтому накапливается глицерин, образующийся в результате окисления НАД $\cdot$ Н глицеральдегид-3-фосфатом. У шизонтов (одна из стадий развития малярийного плазмодия) путь Мейергофа функционирует достаточно эффективно, превращая глюкозу в молочную кислоту. У *Entamoeba histolytica* главным путем утилизации глюкозы служит образование пирувата из фосфоглюконата и из 2-кето-3-дезоксис-6-фосфоглюконата [525].

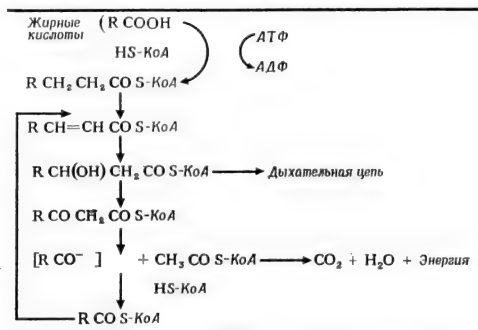
У *растений* также используется путь Мейергофа, но при этом существует не менее трех различных глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназ: одна из них реагирует с НАД и две — с НАДФ (одна из этих двух дегидрогеназ катализирует реакцию окисления глицеральдегид-3-фосфата в 3-фосфоглицерат без промежуточного образования 1,3-дифосфоглицерата). Эти катализируемые НАДФ процессы связаны с фотосинтезом. В более старых тканях растений используется также пентозофосфатный путь, так что до 50% углеводов могут претерпевать превращения по этому пути.

Для *бактерий* путь Мейергофа весьма обычен, но кроме него существуют еще по меньшей мере два альтернативных пути. Один из них — пентозофосфатный цикл, в котором сначала глюкозо-6-фосфат окисляется до рибулозо-5-фосфата, далее две молекулы рибулозо-5-фосфата взаимодействуют с образованием одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата и седогептулозо-7-фосфата. Последние в свою очередь реагируют друг с другом, давая фруктозо-6-фосфат и тетрозосфосфат. Другой путь — так называемый 2-кето-3-дезоксис-6-фосфоглюконатный путь — состоит в окислении глюкозы в глюконат примитивным способом без предварительного фосфорилирования. Глюконат далее в некоторых случаях фосфорилируется, превращаясь в 6-фосфоглюконат, который в конце концов разлагается с образованием пирувата, через стадию образования 2-кето-3-дезоксис-6-фосфоглюконовой кислоты (либо иначе 6-фосфоглюконат включается в пентозофосфатный путь). В других случаях глюконат окисляется в 2-кетоглюконат, который фосфорилируется с образованием 2-кето-6-фосфоглюконата. Затем следует восстановление 2-кето-6-фосфоглюконата посредством НАДФ $\cdot$ Н в 6-фосфоглюконат, который далее включается в один из двух путей, описанных выше. У бактерий, не способных утилизировать глюкозо-6-фосфат (например, у псевдомонад и аэробактера), предпочтительно используются пути, отличные от пути Мейергофа.

В тех случаях, когда питательные вещества имеются в избытке, многие бактерии запасают их в форме гликогена или  $\beta$ -оксимасляной кислоты, которые впоследствии используются как источники энергии [1540]. Дрожжи и некоторые виды бактерий превращают пировиноградную кислоту в этанол, а не в молочную кислоту.

Вопросы, связанные со специфичностью некоторых гомологичных ферментов, функционирующих в процессе гликолиза, обсуждаются в разд. 4, ж.

*Окисление жиров* происходит у всех видов клеток в митохондриях и осуществляется в классической форме  $\beta$ -окисления до ацетилкофермента А (фиг. 16). Правда, у некоторых видов имеется в запасе один или два вспомогательных механизма обмена. Так, у растений используется в побочных путях



Фиг. 16. Нормальное окисление липидов (сокращенно).

липоксидазы и пероксидазы алифатических кислот. Далее, у растений, животных и бактерий существует особый механизм для окисления кислот с нечетным числом углеродных атомов. У некоторых грибов в процессе  $\beta$ -окисления в качестве побочных продуктов образуются кетоны. Насекомые нуждаются в стеринах, но неспособны синтезировать их сами [882].

Поскольку в процессе метаболизма жиров воды образуется вдвое больше, чем в белковом и углеводном обмене, для клеток, живущих под угрозой частого и внезапного обезвоживания, характерным является высокий уровень обмена жиров. В частности, это характерно для нематод [99].

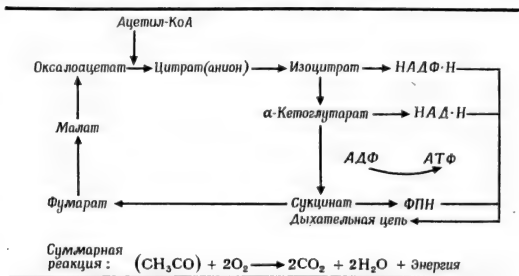
### д. Цикл трикарбоновых кислот и транспорт электронов

Большая часть энергии, заключенной в углеводах и жирах, остается в результате гликолиза и  $\beta$ -окисления неиспользованной, однако дальнейшее высвобождение этой энергии возможно только в присутствии достаточного доступа кислорода. В таких аэробных условиях клетки используют для этой цели ацетилкофермент А ( $\text{CH}_3\text{COS} - \text{KoA}$ , фиг. 16). Ацетил-KoA образуется при метаболизме липидов (фиг. 16), но также из пировиноградной кислоты — конечного продукта гликолиза в аэробных условиях (фиг. 15). Ацетил-KoA может служить «топливом» для цикла трикарбоновых кислот (синонимы: цикл лимонной кислоты, цикл Кребса), в котором он превращается в двуокись углерода, воду и энергию (фиг. 17). Бактерии осуществляют превращение пировиноградной кислоты в ацетил-KoA через ацетилфосфат, тогда как у позвоночных животных для этой цели используется иной набор ферментов и в качестве промежуточного продукта образуется ацетилацетат.

В противоположность существовавшим ранее представлениям все бактерии и дрожжи используют цикл трикарбоновых кислот в качестве главного пути конечного окисления. У некоторых бактерий (например, *E. coli* и *Ps. aeruginosa*) и грибов (например, *Aspergillus* и дрожжи) имеется небольшое отклонение от нормального цикла в виде своего рода шунта: изоцитрат дисмү-

тирует с образованием сукцината и глиоксилата; последний димеризуется затем с образованием малата, который так же, как сукцинат, служит одним из нормальных компонентов цикла. Промежуточные продукты других известных шунтов цикла трикарбоновых кислот — гликолат, полуальдегид тартровой кислоты и  $\beta$ -оксиспартат [841, 842]. Паразитирующие в кровяном русле формы многих видов трипаносом не содержат митохондрий, и соответственно цикл трикарбоновых кислот у них отсутствует [547].

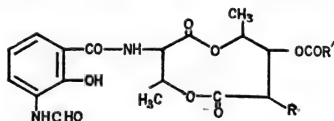
В цикле трикарбоновых кислот образуются большие количества восстановленных форм адениннуклеотидов, соединенных с никотинамидом (НАД



Фиг. 17. Цикл трикарбоновых кислот (сокращенно).

и НАДФ) и рибофлавином (ФНД). Регенерация этих коферментов происходит в результате транспорта электронов от восстановленных форм к кислороду воздуха. Почти во всех живых клетках этот транспорт осуществляется через посредство всей или части цитохромной дыхательной цепи (разд. 3, г). Известны в небольшом числе и другие пути, однако они не обеспечивают одновременного образования АТФ, необходимого в качестве аккумулятора выделяющейся в результате всех превращений энергии. У большинства организмов, у которых полностью отсутствуют цитохромные системы, аэробные метаболические процессы играют ничтожную роль. У стрептококков роль отсутствующих цитохромных систем выполняет рибофлавинсодержащая пероксидаза, однако она не обеспечивает возможностей для аккумуляирования энергии.

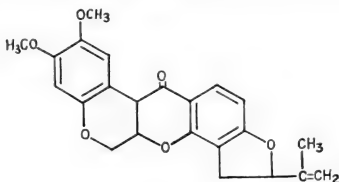
**Ингибиторы дыхательной цепи.** Конечным компонентом этой цепи служит цитохром  $a_3$  (прежнее название — цитохромоксидаза); мощным и специфичным ингибитором этого фермента является цианид-ион. На участке между цитохромами  $b$  и  $c_1$  дыхательная цепь специфически ингибируется целым семейством родственных антибиотиков, известных под общим наименованием антимицина А (1.16) и выделенных из стрептомицетов (в клетке механизм активности антимицина А иной, но в митохондриях он действует



Семейство антимицинов А  
R<sub>1</sub>R'-алкильные группы (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)

(1.16)

только таким образом). О способности антимицина А связывать железо с образованием хелатов см. в гл. 9, разд. 8. Ротенон (1.17), инсектицид расти-



Ротенон  
(1.17)

тельного происхождения, обнаруживает способность в концентрации  $10^{-8}$  М блокировать восстановление цитохрома *b* дыхательной цепи посредством НАД·Н. Ротенон тормозит процесс окисления пирувата и глутамата (но не сукцината). Рыбы в отличие от млекопитающих чрезвычайно чувствительны к действию ротенона. Защитный механизм, имеющийся у млекопитающих, неизвестен; изолированные митохондрии млекопитающих крайне чувствительны к действию ротенона [484, 544, 912]. Папаверин, по-видимому, действует на те же самые звенья митохондриального механизма, что и ротенон, но слабее. Действие его обратимо; оно исчезает в присутствии витамина К [1256].

Атрактиловая кислота — гликозид соединения фенантренового ряда из корней *Atractylis gummiifer* [19] со стероидоподобной структурой. Она опосредованно тормозит процесс окислительного фосфорилирования, препятствуя проникновению АТФ через митохондриальные мембраны [308]. Мыши при введении атрактиловой кислоты погибают от гипогликемических судорог [1256]. Действие ее снимается 2,4-динитрофенолом, который является хорошо известным разобщающим агентом окислительного фосфорилирования и разделяет два процесса — перенос электронов по дыхательной цепи и накопление одновременно выделяющейся энергии в форме АТФ. Антибиотик олигомицин вмешивается в дыхательные процессы, препятствуя, по-видимому, синтезу фосфорилированных промежуточных продуктов [308].

Соли триалкилолова ( $R_3Sn$ )<sup>+</sup>, которые являются высокоактивными фунгицидными средствами, действуют, по-видимому, на окислительное фосфорилирование в митохондриях [55]. Наибольшее употребление из них получил трибутильный гомолог как наименее токсичный для млекопитающих [116], хотя многие другие гомологи — не менее активные фунгициды [704].

Воспалительные процессы в тканях млекопитающих представляют собой, по-видимому, не что иное, как патологическую интенсификацию нормальных метаболических реакций в пораженном участке. Многие из противовоспалительных средств, например салицилаты, являются активными разобщающими агентами окислительного фосфорилирования в митохондриях. Некоторые считают, что противовоспалительное действие является результатом такого разобщения (дополнительно по вопросам, связанным с этими взаимоотношениями, см. работы [9, 1344]). Однако 2,4-динитрофенол, сильный разобщающий агент, не обладает противовоспалительными свойствами, тогда как кортикостероиды — вещества с мощным противовоспалительным действием — не являются разобщающими агентами.

Терминальные участки дыхательной цепи у некоторых бактерий [436], простейших (трипаносомы) [608] и паразитических червей (аскариды) [833] нечувствительны к цианидам и антимицину А в концентрациях, летальных для клеток млекопитающих. Совершенно очевидно, что они могут обходиться

без участия дыхательной цепи, расположенного после цитохрома *b*. Однако эти бактерии обнаруживают особую чувствительность к аналогам витамина К, в частности к 2-окси-3,2'-метилоктил-1,4-нафтохинону. У растений известен аналогичный случай терминального дыхания, нечувствительного к цианидам, но зависящего от цитохрома *b*.

Причины широкой распространенности оксидазы аскорбиновой кислоты у высших растений неизвестны, но предполагается, что этот фермент не связан с процессом дыхания, так же как и часто встречающиеся, особенно у растений и насекомых, фенолоксидазы. Функцией этих ферментов у насекомых является окисление комплекса протокатеховая кислота — белок, в результате чего их наружный скелет приобретает свойственную ему окраску.

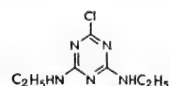
#### *е. Фотосинтез*

Все зеленые растения и очень немногие бактерии (непатогенные) обладают способностью расщеплять воду на водород и кислород, используя для этой цели солнечный свет. Растения выделяют этот кислород в атмосферу, способствуя восстановлению нормального состава воздуха, которым мы дышим. Большее значение для жизнедеятельности растений имеет их способность синтезировать из водорода и двуокиси углерода воздуха за счет чрезвычайно сложного цикла реакций углеводы, белки и даже жиры. Фотосинтез начинается с поглощения видимого света квантасомами (агрегаты примерно из 200 молекул хлорофилла), расположенными в хлоропластах, о которых уже шла речь в разд. 3, а. Затем следует фотолиз воды, в результате которого образуются водородные радикалы, необходимые для восстановительных процессов, и электроны — для восполнения электронных потерь хлорофилла. Эта стадия процесса носит название реакции Хилла.

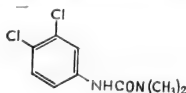
Одновременно происходит восстановление ферредоксина в хлоропластах возбужденными светом молекулами хлорофилла до форм с необычно низким потенциалом:  $-400\text{ мв}$  и даже ниже. Этот процесс переноса электронов от молекул воды используется для восстановления НАДФ и фосфорилирования АДФ в АТФ. Вслед за этим с помощью этих кофакторов происходит перенос энергии солнечных лучей к сложному циклу синтетических реакций, в котором важную роль играют такие промежуточные продукты, как рибулоза и седогептулоза; большая часть путей ведет к образованию глицеральдегид-3-фосфата (и, следовательно, далее к крахмалу или пировиноградной кислоте в результате превращений, сходных с теми, которые представлены на фиг. 15). Более подробные сведения о фотосинтезе можно получить в работе [282]. У красных водорослей в качестве первичного акцептора световой энергии используется не хлорофилл, а фикоэритрин, а у сине-зеленых (последних в настоящее время относят к бактериям) — фикоцианин [662]. Это пигменты, производные пиррола, которые по структуре близки к желчным пигментам. По-видимому, в процессе эволюции они играли роль предшественников фитохрома (см. ниже разд. ж).

В течение последних лет были найдены многочисленные гербициды, избирательно нарушающие процесс фотосинтеза на стадии реакции Хилла и, следовательно, совершенно безвредные для животных. Из этих гербицидов наиболее широко используются триазины, например симазин (1.18), который, независимо от дозы, не токсичен для млекопитающих. Действие триазинов можно наблюдать в экспериментах на изолированных хлоропластах, используя концентрации, соответствующие тем ( $10^{-7}\text{ М}$ ), при которых эти соединения проявляют гербицидную активность. Хлебные злаки абсорбируют симазин, но обезвреживают его, так как обладают способностью гидролизовать его с заменой хлора на оксигруппу [491, 622]. Симазин широко используется для борьбы с сорняками на кукурузных полях. В то время как на большинство овощных культур триазины оказывают неблагоприятное действие, ягодыники,

а также розы и садовые кустарники остаются незатронутыми, и в настоящее время очистка всех этих растений от сорняков химическим способом с помощью триазинов стала обычным явлением. Эти гербициды (а также монурон,



Симозин  
2-Хлор-4, 6-бис-этиламино-  
1,3,5-триазин)  
(1.18)

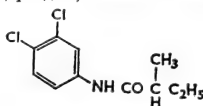


3,4-Дихлорфенилдиметилмочевина  
(1.19)

см. ниже) не разрушаются бактериями и остаются в почве в течение многих лет.

К гербицидам, в основе действия которых лежит подавление реакции Хилла, относятся открытые ранее, но до сих пор не вышедшие из употребления производные фенилмочевины, а также различные ациланилиды и фенилкарбаматы (последние менее активны). Из производных мочевины самым активным является 3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевина (1.19), но и монурон (открытое ранее и несколько менее эффективное 4-монохлорпроизводное) все еще находит применение. Из амидов самым мощным гербицидом является 3,4-дихлорфенил-2-метилбутанамид (1.20). Активность этих соединений зависит от присутствия свободной иминогруппы, карбонильной группы, боковой цепи довольно строго определенной длины и заместителей в положении 4 (или лучше в положениях 3 и 4) бензольного кольца; лучшими в этом смысле заместителями служат галогены, метоксигруппы или метильные группы [589]. О оксиниле (3.16), также способном ингибировать реакцию Хилла [540], говорится в гл. 3, разд. 4. В гл. 13 (разд. 1) описан еще один ингибитор фотосинтеза — паракват (13.2).

3-Амино-1,2,4-триазол (1.21) (амитрол) тормозит синтез хлорофилла. Механизм его действия в зеленых растениях неизвестен (о действии его на дрожжи см. гл. 6, разд. 4).



3,4-Дихлорфенил-2-  
метилбутанамид  
(1.20)



3-Аминотриазол  
(1.21)

### ж. Ферменты, коферменты и гормоны

**Ферменты.** Несмотря на то что столь большое число стадий гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и переноса электронов оказываются общими для всех форм жизни, известно множество примеров, когда ферменты, выполняющие у двух разных видов как будто бы одинаковые функции, сами оказываются различными (изоферменты). Это было доказано разными способами: по различиям в иммунологических свойствах этих ферментов, кинетике, электрофоретическом поведении и специфичности (в отношении коферментов, субстратов или ингибиторов). Ниже приведены соответствующие примеры.

Между кристаллическими глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназами дрожжей и мышц кролика существуют отчетливые иммунологические разли-



ция [849]. Аналогичным образом гексокиназа дрожжей серологически отлична от гексокиназы мозга. Лактатдегидрогеназа и фосфоглюкозоэпимераза шистосом серологически отличаются от соответствующих ферментов в мышце кролика. Аналогичное явление можно наблюдать и для разных органов в одном и том же организме. Так, фосфорилаза из сердца собаки серологически отличается от фосфорилазы печени той же собаки.

Различия в ферментах между разными тканями одного и того же организма часто оказываются чисто количественными. Так, в мозгу глутаминсинтетазы содержится больше, чем в печени, а во всех остальных тканях человека она вовсе отсутствует. Что касается ферментов, характерных для мышц, то некоторые из них (например, аконитаза и оксалоацетаттрансацилаза) в значительно больших количествах представлены в сердце, чем в скелетных мышцах, тогда как для альдолазы справедливо обратное соотношение [430]. Было обнаружено, что удельная активность пурифосфорибозилтрансферазы в опухолевых клетках (асцитная карцинома Эрлиха) у мыши в 15—60 раз превышает активность этого фермента в печени, мозгу, селезенке, сердце и почках этого же животного [1032].

В табл. 19 сравнивается влияние антибактериального препарата — производного 2,4-диаминопиримидина — на активность фермента дигидрофлатгидрогеназы, полученного из разных источников. Это соединение ингибирует активность изофермента из печени крысы в  $10^5$  раз слабее, чем изофермента бактерий. Точно так же фторцитрат-ион в 2000 раз сильнее подавляет активность аконитатгидратазы животных (сердце свиньи), чем аконитатгидратазы растений (платаны, огородный горох) [1433]. Шистосомы (трематоды) паразитируют в крови человека, вызывая у него хроническое заболевание (бильгаргиоз). Кинетические исследования обнаружили значительные различия [963] в активности лактатдегидрогеназы у этих глистов и в мышце кролика; кроме того, оптимальное значение pH для ферментов шистосом оказалось значительно более низким. Константа диссоциации для комплекса фермент — пирuvat у шистосом в 6—12 раз выше, чем у млекопитающих. Были найдены существенные различия в субстратной специфичности гексокиназ, выделенных из тканей шистосом и млекопитающих [251, 962]. Фосфофруктокиназа (фермент, катализирующий превращение фруктозо-6-фосфата в соответствующий дифосфат) в организме шистосом легко блокируется производными трехвалентной сурьмы. В результате происходит накопление фруктозо-6-фосфата. Однако для ингибирования фосфофруктокиназы млекопитающих требуется в 80 раз большее количество препарата сурьмы. Эффективность лечения шистосоматоза препаратами сурьмы объясняется избирательным блокированием фосфофруктокиназы червей, так что активность фосфофруктокиназы в организме человека остается почти неизменной (гл. 10, разд. 1) [964], что крайне важно, если учесть, что этот фермент в цикле Кребса является ключевым.

Многие гексокиназы обладают высокой специфичностью, катализируя каждая превращение какой-либо одной гексозы, но есть и такие, которые способны катализировать фосфорилирование нескольких углеводов.

Хорошо известно, что ферменты различаются между собой по потребности в разных кофакторах, в особенности в металлах. Так, кристаллические альдолазы дрожжей и плесеней [1488], а также бактерий *Clostridium perfringens* [105] нуждаются в железе в отличие от альдолаз млекопитающих, растений и трипаносом [1413]. Дополнительные примеры приведены в гл. 9, разд. 2.

Изменения в результате мутаций гены бактерий *E. coli* обуславливают нарушения в процессе включения аминокислот в белки. Так, у одного мутанта *E. coli* в молекуле фермента триптофансинтетазы один из остатков глицина замещен на остаток аргинина, а у другого мутанта — на остаток глутаминовой кислоты, хотя на активности фермента это никак не сказывается [669].

Активность ацетилхолинэстеразы червя *Haemonchus contortus*, паразитирующего в кишечнике овцы, необратимо ингибируется фосфорорганическим соединением галоксоном (10.25). В то же время активность ацетилхолинэстеразы из кишечника овцы ингибируется при действии этого препарата лишь временно и быстро восстанавливается. У других глистов, на которые галоксон не оказывает действия, как выяснилось, содержится ацетилхолинэстераза, отличная от той, которая обнаружена у *Haemonchus contortus* [892].

Самые поразительные отличия были обнаружены между препаратами цитохрома с, выделенными из разных видов. Два остатка цистеина в белковой части молекулы этого фермента соединены с боковыми цепями порфиринового кольца тиоэфирными связями. Был полностью установлен порядок расположения 80 аминокислот, входящих в состав этого фермента, для восьми видов: человека, коровы, свиньи, лошади, цыпленка, тунца, дрожжей и *Pseudomonas*.

Оказалось, что участок цепи аминокислот, расположенный в непосредственной близости к порфириновому кольцу: лизин (или аргинин)-цистеин-*a-b*-цистеин-гистидин — присутствует во всех этих цитохромах. В то же время в структуре других частей молекулы фермента обнаруживается очень мало общих черт, что особенно резко выступает при сравнении с *Pseudomonas*. Тем не менее и бактериальный фермент выполняет в точности те же функции, что и ферменты других организмов [667, 1347]. Методом расщепления пепсином удалось в молекуле цитохрома с нескольких видов организмов расшифровать последовательность аминокислот, расположенную в одном и том же участке молекулы, вблизи порфиринового ядра [1088]:

*Корова, лошадь, свинья, лосось*

Вал-Глу-Лиз-Цис-Ала-Глу-Цис-Гис-Тре-Вал-Глу

*Цыпленок*

Вал-Глу-Лиз-Цис-Сер-Глу-Цис-Гис-Тре-Вал-Глу

*Шелковиный червь*

Вал-Гли-Арг-Цис-Ала-Глу-Цис-Гис-Тре-Вал-Глу

*Дрожжи*

Лиз-Тре-Арг-Цис-Глу-Лей-Цис-Гис-Тре-Вал-Глу

*Rhodospirillum* (фотосинтезирующая бактерия)

? -Цис-Лей-Ала-Цис-Гис-Тре-Фен-Асп

Главные общие особенности всех этих последовательностей следующие: 1) два остатка цистеина, находящиеся в строго фиксированных положениях и на определенном расстоянии друг от друга; 2) первому из этих остатков цистеина предшествует аминокислота, обладающая сильно выраженными основными свойствами, а за вторым следует гистидин, который всегда связан с атомом железа гемопорфирина.

Дополнительные сведения о ферментах см. в гл. 6, введение.

*Коферменты.* Предполагается, что сидерамины — железосодержащие вещества, обнаруженные только у бактерий, — служат у них заменителями цитохромных коферментов. Сидерамины делятся на ферриоксамины и феррихромы. Ферриоксамины, которых существует по меньшей мере восемь разновидностей, представляют собой полимерные цепи, состоящие из ампино-групп и гидроксиламиногрупп (алифатических соединений), связанных между собой остатками янтарной кислоты. Железо в этих соединениях связано прочно. Так, например,  $\log K$  для  $\text{Fe}^{3+}$ -комплекса равен 31 (для ЭДТА —  $\text{Fe}^{3+}$ -комплекса  $\log K = 24$ , см. табл. 33). Феррихромы (их существует по мень-

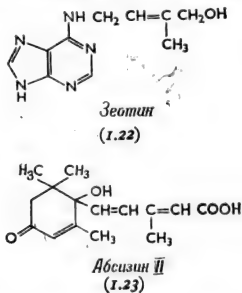
ней мере 5 разновидностей) представляют собой полимеры, состоящие из аминокислот, одна из которых (L-N-оксипропятион) содержит гидроксил-аминогруппу [171, 1160]. У порфириновзависимых штаммов бактерий сидерамины могут функционально замещать гемины, во много раз превосходящие их по молекулярному весу. Дальнейшие сведения о сидераминах см. в гл. 9, разд. 2.

Сидеромицины — природные антагонисты сидераминов, по структуре очень сходные с сидераминами; в качестве примера таких соединений можно привести альбомицин, ферромицины [170] и гризеин. Гризеин содержит также остаток 3-метилурацила [860]. О ферредоксине — белке, содержащем железо (негеминное), который встречается только у бактерий и растений, речь пойдет в гл. 9, разд. 2.

Различия в поглощении и биосинтезе фолиевой кислоты (6.17) и ее производных у человека и бактерий столь велики, что на них основывается вся система химиотерапии сульфамидами (гл. 6, разд. 3).

Фитохром — окрашенный в голубой цвет, не содержащий металла комплекс, состоящий из тетрапирролметина (сходен по структуре с желчными пигментами) и белка. Фитохром присутствует только в зеленых растениях; в его функции входит регистрация длительности фотопериода и тем самым он регулирует фотопериодическую реакцию. На свету та форма фитохрома, которая поглощает в ближней красной области спектра, превращается в форму, поглощающую в дальней красной области спектра; в темноте происходит обратное превращение. Каждая из этих двух форм осуществляет регуляцию через посредника, в качестве которого могут выступать флавоны, кемферол или кверцетин. Фитохром регулирует у растений переход от вегетативной стадии жизненного цикла к репродуктивной [1320].

**Гормоны растений.** Известно много гормонов, встречающихся только у растений. Индолилуксусная кислота (11.11) — главный ауксин, ответственный за удлинение клеток, завязывание плодов и некоторые другие процессы. Кинины — производные пуринов, резко ускоряют процесс клеточного деления. Зеатин (1.22), выделенный из кукурузы, также является типичным примером растительных гормонов [902]. Гиббереллины — целое



семейство сложных дитерпеновых кислот, которые выделены из грибов; синтетическим путем их пока получать не удается. Гиббереллины обладают способностью вызывать удлинение клеточных стенок и нарушать покой семян, индуцируя образование амилазы [1450] (гл. 4, разд. 3).

Абсизин II (1.23) — это сесквитерпен с дорминоподобным действием. Он приостанавливает рост растений и стимулирует опадание листьев и плодов. Абсизин II впервые был синтезирован Корнфортом [356].

*Гормоны позвоночных животных.* Полипептидные гормоны животных обнаруживают видовые различия, подобно тому как это отмечалось для пситохрома с. В качестве примера приводим аминокислотные последовательности в одном и том же участке (остатки № 24—35) цепей адренокортикотропных гормонов двух видов — овцы и свиньи [1293]:

*Овца*

Про-Ала-Гли-Глу-Асп-Асп-Глу-Ала-Сер-Глу-Ала-Фен

*Свинья*

Про-Асп-Гли-Ала-Глу-Асп-Глу-Лей-Ала-Глу-Ала-Фен

Еще один пример — видовые различия в составе одного из пентапептидов инсулина. Об этих различиях можно судить на основании данных, приведенных в табл. 3.

**Таблица 3**  
**Видовые различия в одном из пентапептидов**  
**(остатки 7—11) инсулина**

Вид	№ остатка				
	7	8	9	10	11
Бык	Цис	Ала	Сер	Вал	Цис
Овца	Цис	Ала	Гли	Вал	Цис
Свинья и кит	Цис	Тре	Сер	Илей	Цис
Лошадь	Цис	Тре	Гли	Илей	Цис

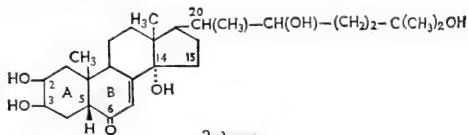
Допамин в нервной системе ракообразных, моллюсков и иглокожих играет, по-видимому, ту же роль, что норадреналин в организме позвоночных животных [359]. О гипотезе, согласно которой гормоны оказывают индуцирующее действие на нуклеиновые кислоты, стимулируя синтез ферментов под их управлением, см. гл. 4, разд. 3.

*Гормоны насекомых.* У насекомых контроль различных физиологических процессов осуществляется большей частью гормонами. Изучение этих гормонов в связи с проблемами избирательной токсичности имеет две цели: во-первых, изучение природы гормонов, изыскание недорогих способов их получения и применение их в избыточных количествах, которые обеспечили бы нарушение метаболизма у насекомых; во-вторых, синтез аналогов, обладающих антагонистическим действием (гл. 6, введение) с целью использования их в качестве инсектицидов.

Главные гормоны насекомых следующие: экдизон (гормон линьки), образуемый в железах, расположенных в переднегрудях насекомых; гормон, секретируемый мозгом и стимулирующий деятельность желез переднегруды; ювенильный гормон, вырабатываемый в *corpora allata* и стимулирующий метаморфоз. Далее у таракана *corpora cardiaca* выделяют гормон, который увеличивает амплитуду сокращений сердечной мышцы и перистальтику кишечника [400]. Сведения об остальных гормональных веществах насекомых приведены в гл. 4, разд. 6 и в гл. 14, разд. 3.

Наиболее хорошо изученный из гормонов насекомых, экдизон (1.24), отличается следующими структурными особенностями, не встречающимися в структуре гормонов млекопитающих: кольца А и В сконденсированы в *цис*-положении, кроме того, в положении С<sub>2</sub> имеется гидрофильный заместитель, в  $\alpha$ -части цепи (С<sub>3</sub> — С<sub>15</sub>) также содержатся гидрофильные заместители, а у С<sub>17</sub> — очень длинная боковая цепь (гл. 11, разд. 2, химия стероидов). Структура этого гормона была установлена Хьюбером и Хоппе [728], а также Карлсоном и сотр. [801], а синтез его осуществлен Сиддалом

[1317]. Крустэксдизон, гормон линьки ракообразных, встречающийся также у некоторых насекомых, представляет собой 20-оксидксдизон [722]. Есть все основания предполагать, что разнообразные представители группы эксдизонов в ближайшее время удастся получать в достаточных количествах из растительных продуктов.



Эксдизон  
(1.24)

Ювенильный гормон представляет собой простое по структуре алифатическое соединение — это метиловый эфир 10-эпокси-7-этил-3,11-диметил-2,6-тридекадиеновой кислоты [1215]. Ювенильный гормон и его синтетические аналоги служат активными инсектицидами, впрочем, кратковременного действия [1463].

Опубликованы обзоры по физиологии гормонов насекомых [1066] и по биохимии насекомых [592].

Многие насекомые в ответ на угрозу выбрасывают защитные вещества. К ним относятся синильная, азотистая и муравьиная кислоты, алифатические и ароматические альдегиды, метилгептенон, кантаридин, 1,4-бензохинон и его алкилпроизводные, а также иридомирмецин [лактон 2-(2-оксиметил-3-метилциклопентил)пропионовой кислоты] [1236]. Многие насекомые-паразиты вырабатывают высокоспецифичные токсины [130].

Более подробно о вопросах, связанных со сравнительной эндокринологией, см. в [486] и в последующих томах этой же серии.

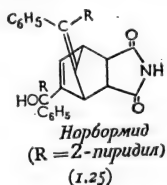
### 3. Метаболизм чужеродных веществ

Нельзя не удивляться тому, насколько различными оказываются механизмы превращения чужеродных веществ даже у близко родственных видов. В частности, механизм избирательного действия многих из самых эффективных фосфорорганических инсектицидов основан на двух главных — противоположных по своей направленности — принципах. Во-первых, данный агент в организме насекомого претерпевает превращение в другое, более токсичное соединение. В то же время в организме млекопитающего этот агент, напротив, превращается в менее токсичное соединение. Подробнее об этом см. в гл. 10, разд. 3.

Аминокислота триптофан у высших растений разлагается с образованием индолил-3-уксусной кислоты, которая является для них важным гормоном роста; бактерии превращают триптофан в триптамин; в то же время у млекопитающих из триптофана сначала образуется 3-оксиантраниловая, а затем никотиновая кислота, которая является незаменимым метаболитом.

В то время как у позвоночных животных фенолы превращаются в  $\beta$ -глюкурониды, у насекомых из них в большинстве случаев образуются фенил- $\beta$ -глюкозиды. Хлорированные циклодиеновые инсектициды в организме насекомых превращаются в соответствующие эпоксиды — редкая для животных биохимическая реакция. Это превращение (например, превращение альдрина в дильдрин), по-видимому, не сопровождается изменением токсичности в отношении насекомого: оказалось, что альдрин не менее активен и в том случае, если удастся воспрепятствовать его превращению в эпоксид [1393].

Особый интерес представляют те случаи избирательно протекающих реакций обмена, которые по-разному протекают у человека и большинства других млекопитающих, так как именно в этих различиях кроются опасности, угрожающие неудачами при переходе от опытов на лабораторных животных к лечению людей. Так, только человек и приматы Старого Света (но не Нового Света) обладают способностью дегидрогенировать хинную кислоту, превращая ее в бензойную. Антибактериальный сульфамидный препарат сульфадиметоксин выделяется из организмов человека и приматов в виде N'-глиукуронида, тогда как обычные лабораторные животные секретируют его в виде N-ацетильного производного [10]. Другие ароматические амины, например анилин, а также сульфаниламид (белый стрептоцид), ацетируются в организме человека и многих других млекопитающих. Это справедливо и для большинства видов птиц, земноводных, пресмыкающихся и рыб. Однако собаки, лягушки и черепахи не обладают способностью ацетилировать ароматические амины. Далее, хинолин у собак и домашней птицы метилируется по атому азота, тогда как у кроликов вводится оксигруппа в положение 6.



Из всех известных ядов, действующих на млекопитающих, наибольшей избирательностью действия обладает норбормид (1.25), который под названием «шоксин», «ратикат» [362] применяется для уничтожения крыс. Это соединение представляет собой 5(α-окси-α-2-пиридилбензил)-7(α-2-пиридилбензиден)-5-норборнен-2,3-дикарбоксимид [1234]. Оно действует только на представителей рода *Rattus*. Летальный исход обусловлен сильным местным раздражающим и сосудосуживающим действием, которое ведет к ишемии ряда жизненно важных органов. Норбормид (1.25) не летален для более чем 30 видов других млекопитающих (в том числе мышей и прочих грызунов), птиц и рыб. По-видимому, все животные кроме крыс обладают способностью обезвреживать норбормид [1233].

## и. Количественные соображения

Рассмотренные до сих пор биохимические различия, характерные для живых организмов, носили качественный характер. Следует, однако, иметь в виду, что даже в тех случаях, когда у двух видов используются одинаковые метаболические пути, у них могут существовать количественные различия. Эти количественные различия могут касаться способности к накоплению (гл. 1, разд. 2; гл. 2, разд. 6), но могут встречаться количественные различия и в метаболизме. Наглядным примером тому служат патогенные трипаносомы. Было обнаружено, что они утилизируют глюкозу в 2000 раз быстрее, чем организм-хозяин. Так, 1 млн. особей *T. rhodesiense* весит 0,0078 мг, а потребляет за 5 час 0,031 мг глюкозы<sup>1</sup>. Таким образом, получается, что за 24 час они потребили бы в 20 раз больше глюкозы, чем весят сами. А количество пищи, потребляемое за этот промежуток времени чело-

<sup>1</sup> Частное сообщение, полученное от покойного доктора Е. М. Лурье.

веком, составляет всего 1/100 его веса. Столь интенсивный углеводный обмен у паразитов является особенно уязвимым, так как запасаания энергии у этих организмов практически не происходит.

Подобные количественные различия оказываются не всегда выгодными для более крупных особей. Так, например, чувствительность к атропину у человека в 15 раз выше, чем у кролика. Однако стрихнин в дозе, безопасной для человека, может уничтожить такое число кроликов, которое по весу превосходит вес человека, а синильная кислота в концентрации, безопасной для человека, оказывает мгновенное летальное действие на собак.

## 5. Заключение

Многие различия между разными клетками и даже между разными тканями одного организма были рассмотрены в связи с различиями в распределении, биохимических механизмах и цитологических характеристиках. В настоящее время известно много примеров того, как эти различия определяют избирательное действие эффективных лекарственных препаратов и других биологически активных агентов. Отсюда следует, что при поиске биологически активных веществ следует максимально использовать весь запас сведений, полученных в результате исследований, проведенных в этих трех направлениях, и всячески стимулировать дальнейшее развитие этих исследований.

*Введение*

Независимо от того, вводится ли лекарственное вещество перорально или парентерально, оно должно, прежде чем достигнуть своего рецептора, проникнуть через одну или несколько полупроницаемых мембран. Так, противомалярийные препараты, будучи введенными внутрь, сначала преодолевают барьер, отделяющий желудочно-кишечный тракт от крови, затем проникают через мембрану эритроцитов и, наконец, через мембрану самого малярийного плазмодия. По обе стороны каждой из преодолеваемых мембран концентрация лекарственного вещества в результате его депонирования, выведения и инактивации непрерывно снижается. Депонирование может происходить, например: 1) в липидах (это справедливо для жирорастворимых веществ типа тиопентала), 2) путем связывания с нуклеиновыми кислотами или хондроитином (для катионных соединений типа мепакрина и 3) за счет связывания с сывороточным альбумином (для анионных соединений типа сурамина и дикумарина) [711]. Процессы депонирования обычно легко обратимы. В некоторых случаях депонирование оказывается фактором благоприятным — когда, например, за счет запасов обеспечивается поддержание постоянного уровня лекарственного вещества в крови (скажем, при септицемии). Однако депонирование может сыграть и неблагоприятную роль. Так бывает, например, когда после обычной дозы снотворного, принятого перед отходом ко сну, человек не в состоянии проснуться на следующее утро.

Выведение лекарственного вещества может осуществляться через почки, желчные пути (а отсюда в кишечник) или легкие (средства для наркоза). Примером лекарственных веществ, которые быстро выделяются, не накапливаясь и химически не изменяясь в организме, могут служить эфир и стрихнин. Для многих других лекарственных веществ характерно то, что их выведению предшествует инактивация — процесс, сопровождающийся образованием или разрывом ковалентных связей и, следовательно, отнюдь не легко обратимый. После того как лекарственное вещество проникает через мембраны кровеносных сосудов, опять-таки происходит снижение его концентрации в результате депонирования и инактивации, однако во многих случаях окончательное выведение возможно лишь после возвращения препарата в кровяное русло. Это ограничение служит фактором, способствующим поддержанию уровня лекарственного вещества в крови. В конце концов после того как лекарственное вещество проникнет через последнюю мембрану, окружающую рецептор, оно вступает во взаимодействие с этим рецептором и тут начинается реализация его физиологического действия. Длительность действия лекарственного вещества зависит от того, как долго поддерживается его концентрация, достаточная для насыщения значительного числа рецепторов (см. ниже, разд. 1 настоящей главы, а также гл. 4, разд. 3). Концентрация эта, однако, постепенно падает, и соответственно уменьшается насыщенность рецепторов лекарственным веществом (если лекарственное вещество не вводится повторно).

Все эти конкурирующие взаимоотношения представлены графически на фиг. 18. Из этой схемы, в частности, явствует, что частота введения лекар-

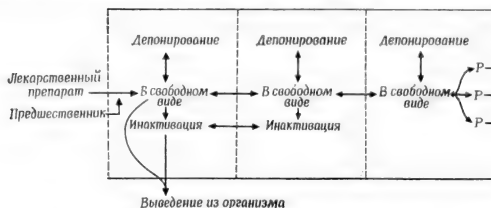


ственного вещества и величина дозы определяются описанными факторами. Стрелки обозначают состояние равновесия или стационарное состояние (см. ниже, разд. 6).

Иногда возникает еще одно осложнение — речь идет о тех случаях, когда вводят не само лекарственное вещество, непосредственно действующее на соответствующие рецепторы, а его неактивный предшественник — соединение, которое превращается в лекарственное вещество только включаясь в процесс метаболизма (разд. 4).

На схеме, приведенной на фиг. 18, отмечено, что большинство описанных процессов обратимо.

Картина распределения была бы неполной, если бы мы не упомянули об особых механизмах повторных циклов, характерных для циркулирования некоторых лекарственных веществ в организме. Циркулирующее в крови



Фиг. 18. Распределение лекарственного препарата или другого биологически активного вещества.

Прерывистыми вертикальными линиями изображены мембраны. Р — рецепторы.

лекарственное вещество попадает в печень через печеночную артерию. Это вещество (или продукты его распада) из двух печеночных долей поступает вместе с желчью в желчный пузырь. Через определенные промежутки времени желчь поступает в дистальную часть двенадцатиперстной кишки. Некоторые лекарственные вещества всасываются из тонкого кишечника в воротную вену и с током крови попадают в печень, а оттуда с желчью через желчный пузырь вновь попадают в тонкий кишечник. К таким веществам относятся, в частности, фенолфталейн и биаллиламикол (камоформ). Биаллиламикол сверх того проходит еще один цикл: кишечник — легкие — бронхи — трахея — глотка — кишечник. При этом происходит постепенное уменьшение количества лекарственного вещества: в обоих случаях оно выводится с калом, а во втором — еще и путем отхаркивания [424].

В растениях также протекают разнообразные процессы перераспределения. При распылении токсического вещества значительная часть поверхности растений, будучи защищенной другими частями этих же растений, остается необработанной. И все же ветер и влага способствуют перераспределению распыленного токсического агента. Так как поверхность растений заряжена отрицательно, то эффективное перераспределение достигается для веществ, молекулы которых заряжены *положительно* (например, бордоская жидкость или стрептомицин) [426].

Из сказанного выше следует, что при выборе лекарственного вещества необходимо тщательно изучать его физико-химические свойства, для того чтобы по возможности избежать многочисленных осложнений, связанных с депонированием, выведением и разрушением того или иного агента. Как правило, те, кто занимается созданием новых лекарственных препаратов, отнюдь не часто находят в литературе все те сведения, которые необходимы им для решения поставленной задачи. Тем не менее нередко удается, слу-

чайно или преднамеренно, получать лекарственные вещества, обладающие способностью *накапливаться* вблизи тех или иных рецепторов. Если химическая структура этих веществ оказывается комплементарной структуре рецептора, то будет наблюдаться желаемое биологическое действие.

Высокие концентрации лекарственных веществ создаются не только в рецепторах, но также в печени и почках, которые служат в организме центрами детоксикации и выделения.

### 1. Концепция рецепторов

Мысль о том, что лекарственное вещество действует на рецепторы, была впервые высказана Лэнгли, который на основании своих экспериментов по изучению антагонистического действия атропина и пилокарпина на выделение слюны у кошки, высказал следующее умозаключение: «Мы вправе, я думаю, считать, что в нервных окончаниях или в клетках желез существует какое-то вещество или, может быть, вещества, с которыми и атропин, и пилокарпин способны образовывать соединения. В соответствии с этим допущением подобные соединения с атропином и пилокарпином образуются по некоторому закону в зависимости от относительных количеств этих соединений и степени их химического родства с упомянутым веществом» [876].

Однако сам термин «рецептор» предложил Эрлих, который в ходе своих исследований по иммунохимии пришел к выводу, что в основе механизма действия лекарственных веществ лежит их соединение с некими «рецепторами». Эрлих представлял себе рецепторы в виде химически определенных участков поверхности более крупных молекул. Предполагалось, что биологическая реакция возникает (сразу или с некоторой задержкой) как результат соединения этих участков с комплементарными им (в химическом отношении) участками молекул природных или чужеродных соединений. Вот что писал Эрлих: «Эту реакционную группу в молекуле протоплазмы, с которой соединяется попавшая сюда группировка, мы будем далее именовать *рецептором*». Позднее он так сформулировал понятие рецептора: «Это активная группировка в молекуле протоплазмы, к которой присоединяется введенная извне чужеродная «группа» [468]. Многие вопросы, связанные с развитием этой концепции, излагаются в гл. 3, разд. 1. Здесь же достаточно упомянуть в качестве иллюстрации к уже сказанному следующее: Эрлих предполагал, как мы считаем и поныне, что в клетках трипаносом рецепторами для соединений мышьяка служат сульфгидрильные группы (SH) и что гибель трипаносом обусловлена блокированием этих рецепторов мышьяковистыми препаратами. Эрлих также пришел к выводу, что рецептор представляет собой небольшую по размерам молекулу или часть молекулы.

К числу фактов, послуживших в самом начале основанием для предположения о существовании рецепторов, следует отнести поведение оптических стереоизомеров. Очень многие лекарственные вещества, в том числе морфин, атропин и адреналин, существуют в виде правовращающих и левовращающих изомеров (гл. 11, разд. 1), резко различающихся по своей биологической активности. Из того факта, что такие оптические изомеры, обладающие одинаковыми химическими и физическими свойствами, имеют молекулы, которые относятся друг к другу как предмет к своему зеркальному отражению, с очевидностью следует, что для биологического действия лекарственного вещества определяющей является *форма* его молекулы и что часть этой молекулы должна соответствовать какой-то комплементарной ей структуре.

Концепция рецепторов получила надежное обоснование после количественных исследований, проведенных А. Кларком [319]. Он показал, что реакция соединения лекарственного вещества с рецептором подчиняется закону действия масс. Он обнаружил далее, что большинство результатов

самых точных количественных исследований действия лекарственных веществ указывают на то, что между лекарственным веществом и специфичным для него рецептором возникает связь (не обязательно ковалентная). Это положение рассматривается ниже (гл. 4, разд. 3). Подобное образование комплекса между лекарственным веществом и рецептором аналогично, по-видимому, взаимодействию субстрата со специфичным ферментом. В некоторых случаях и в самом деле оказалось, что рецепторы представляют собой ферменты. Так, удалось показать, что оксигруппа серина, входящего как составная часть в молекулу фермента ацетилхолинэстеразы, служит рецептором для фосфорорганических инсектицидов (гл. 10, разд. 3). Механизм антифоллиевой активности пириметамин (6.25), применяемого для лечения малярии, состоит в блокировании фермента дигидрофолатредуктазы (гл. 6, разд. 3, в). Оба эти фермента были выделены и по крайней мере частично очищены. Однако рецепторы, с которыми имеет дело фармакодинамика, естественно, гораздо сложнее, чем те, на которые обычно воздействуют при уничтожении вредных для человека видов. Такие рецепторы, например рецепторы для адреналина и ацетилхолина, находятся в составе полупроницаемой мембраны, и способность этих рецепторов давать *градируемый* ответ на раздражение этим, по-видимому, и обусловлена. Так, фермент аденилциклаза, который служит обычным рецептором для адреналина, входит в состав мембраны, причем его субстратом служит АТФ (гл. 11, разд. 4, а). Поскольку «фармакодинамические рецепторы» не обладают столь высокой специфичностью, какая присуща большинству ферментов (правда, существуют ферменты с нестрогой специфичностью — о некоторых из них пойдет речь в разд. 3 настоящей главы), для обеспечения адекватной реакции необходима известная специфичность при распределении лекарственных веществ (гл. 4, разд. 4). Вопрос о природе связей, образуемых различными лекарственными веществами с рецепторами, обсуждается в разд. 5.

Кребс, используя принятую в биохимии терминологию, сформулировал вопрос о локализации рецепторов следующим образом: «В тех случаях, когда такие специфичные химические соединения, как гормоны, лекарственные вещества, яды изменяют скорости метаболических реакций, можно считать, что эти соединения атакуют один из ключевых этапов<sup>1</sup> в цепи нормальных биохимических реакций. В большинстве случаев первично происходит ингибирование (или активирование) этими агентами фермента. Поскольку скорость остальных реакций в данной последовательности не есть фактор, лимитирующий скорость всего процесса, то их ускорение (или подавление), даже значительное, не сопровождается изменением общей скорости метаболического процесса, хотя обычный стационарный уровень концентраций промежуточных продуктов может при этом измениться».

Кребс писал в 1957 г. [850]: «Результаты экспериментальных наблюдений согласуются с этой точкой зрения. Специфические ингибиторы гликолиза воздействуют либо на реакцию, в которой участвует гексозамин (например, L-глицеральдегид), либо на триозофосфатдегидрогеназную систему (например, иодацетат). Специфические ингибиторы дыхательных процессов воздействуют либо на систему транспорта электронов (например, цианиды, азиды или сульфиды), либо на реакцию, инициирующую атаку органического субстрата, т. е. на дегидрогеназную реакцию (например, малонат). Другие ингибиторы нарушают баланс реагирующих веществ в точках расхождения метаболических путей, как это делают, например, кетогенные агенты, уменьшающие поступление оксалоацетата в печень. Что касается гормонов, то инсулин, например, контролирует скорость гексокиназной реакции, по всей

<sup>1</sup> Под ключевым этапом подразумевается «узкое место» в процессе метаболизма — наиболее медленно текущая реакция в последовательности нормальных биохимических реакций, лимитирующая скорость всего процесса.

вероятности, не непосредственно, а путем регуляции поступления сахара в клетки. Действие тироксина или триподтирониона на общий обмен связано, по-видимому, с вмешательством в функционирование системы транспорта электронов. Глюкогенетическое действие адреналина обусловлено активацией фосфорилазы — фермента, который катализирует расщепление гликогена. Во всех этих примерах объектом действия оказывается наиболее медленно текущая, ключевая реакция».

Таким образом, рецептором может служить любой участник ключевой реакции, будь то апофермент, его кофермент, субстрат или же какая-нибудь часть первого, второго или третьего. А если принять во внимание известные случаи стереоспецифичности, то рецептор может также представлять собой области, лежащие вблизи апофермента или вблизи апофермента с коферментом. Такая точка зрения представляет собой логическое развитие концепции Эрлиха, согласно которой рецептор должен играть жизненно важную роль в метаболизме клетки (гл. 3, разд. 1). Следует признать, что имеющиеся в нашем распоряжении сведения о химической природе рецепторов, за немногими исключениями, носят либо фрагментарный, либо умоизощренный характер. Вопрос о том, каким образом в результате взаимодействия фармакологического агента с соответствующим рецептором инициируется биологическая реакция, будет обсуждаться в гл. 4, разд. 3. Имеются обзоры по механизмам функционирования рецепторов [549, 575].

## 2. Проницаемость природных мембран<sup>1</sup>

Совершенно очевидно, что распределение агента в огромной степени зависит от его способности проникать через полупроницаемые мембраны. О плазматических мембранах речь шла в гл. 1, разд. 3, б. В классическом понимании плазматическая мембрана представлялась статичной структурой — чем-то вроде, например, мешочка для диализа. В последние годы больше внимания уделялось динамическим свойствам мембраны — способности к фазовым переходам и тем ее свойствам, которые сильно сродни ферментативной активности (например, действие пермеаз и транспорт, зависящий от метаболизма глюкозы). Ниже мы приводим классификацию мембран, основанную на их функциях. В соответствии с этой классификацией различают четыре главных типа мембран, к рассмотрению которых мы приступаем (не исключена возможность превращения мембран одного типа в другой).

Наиболее часто встречающиеся мембраны *первого типа* препятствуют прохождению ионов и пропускают нейтральные молекулы. Через такие мембраны быстрее всего диффундируют молекулы веществ с высокими значениями коэффициентов распределения в системе масло/вода, т. е. обладающих сильно выраженными липофильными свойствами. <sup>2</sup>Время, необходимое

<sup>1</sup> В настоящем разделе А. Альберт останавливается на проблеме проницаемости и трактует ее с позиций мембранной теории. Из критики слабых сторон этой теории возникла фазовая теория проницаемости, окончательно сформулированная в трудах Т р о ш и н а А. С. (Проблема клеточной проницаемости, Изд-во АН СССР, М.— Л., 1956) и Н а с о н о в а Д. Н. (Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение, Изд-во АН СССР, М.— Л., 1962). Фазовая теория исходит из определяющей роли протоплазмы и клеточных белков в обеспечении равновесного распределения веществ и их кинетики.

В настоящее время произошло значительное сближение точек зрения сторонников мембранной и фазовой теорий. Теперь ясно, что первым этапом проникновения веществ в клетку является их прохождение через мембрану, и вопрос сводится к степени взаимодействия этих веществ с мембраной. Судьба же поступившего в протоплазму соединения определяется свойствами протоплазмы, в том числе и метаболическими процессами. Мембранная теория делала упор на первой стадии процесса, фазовая — на второй. О точках соприкосновения этих теорий и остающихся пока еще спорных вопросах см. «Руководство по цитологии», т. 1, 491—555, изд-во «Наука», М.— Л., 1965.— *Прим. ред.*

для достижения состояния «половишного равновесия», для мембран этого типа может варьировать приблизительно от 1 мин до 30 дней. Характеристики таких мембран приведены в табл. 4. Большое число подобных исследований начиная с 1933 г. вышло из лаборатории, руководимой Коллендером.

Таблица 4

## Проницаемость природных мембран

Неэлектролиты	Коэффициент распределения в системе оливковое масло/вода ( $\times 10^6$ )	Проницаемость живых клеток, (моль/сек/мк <sup>2</sup> /разность молярных концентраций) $\times 10^{20}$				
		А	Б	В	Г	Д
1,2-Диоксипропан	570	—	13 200	13 000	4 000	24 000
Пропионамид	360	2 200	—	23 000	—	36 000
Ацетамид	83	800	—	10 000	—	15 000
Гликоль	50	1 100	6 700	7 300	2 100	12 000
N-метилмочевина	44	90	—	—	—	1 900
Мочевина	15	15	2 500	—	78 000	1 000
Глицерин	7	18	180	50	17	210
Эритрит	3	3,1	—	—	—	13
Сахароза	3	0,8	—	—	—	8

А—*Curcuma* (цветковое растение) [336]; Б—*Gregarina* (простейшее) [11]; В—яйца *Arbacia* (морское животное) [1377]; Г—бычий эритроциты [767]; Д—*Chara* (зеленая водоросль) [336]; знак — означает «не определялось».

Зависимость между химической структурой соединений и их коэффициентами распределения обсуждается в приложении 3. Коллендер [337] показал, что *порядок* величин, полученных для коэффициентов распределения в различных органических фазах, не меняется, хотя абсолютные значения коэффициентов могут варьировать. Однако порядок величин резко изменяется в тех случаях, когда растворенное вещество способно образовывать водородные связи лишь с одним из двух органических растворителей. Так, например, фенол образует водородные связи с олеиловым спиртом, но не с додеканом [268].

Из данных, приведенных в табл. 4, явствует, что в общем вещества с наибольшими коэффициентами распределения в системе липид/вода быстрее проникают в клетки. К примеру, введение третьей гидроксильной группы в 1,2-диоксипропан (в результате чего образуется глицерин) сопровождается уменьшением коэффициента распределения и соответствующим ослаблением способности проникать в клетку. В действительности из молекул, содержащих более трех гидрофильных групп и имеющих молекулярный вес выше 150, лишь немногие способны легко проникать через мембраны [412]. Некоторую (правда, второстепенную) роль играют при этом также размеры молекул и природа заместителей. Следует отметить характерное свойство мочевины (табл. 4) легко проходить через мембраны в бычьих эритроцитах. Это явление, т. е. накопление мочевины в эритроцитах, оказалось характерным для всех млекопитающих, но не для птиц.

Толщина мембран первого типа составляет, по-видимому, около 5 мк; эти мембраны содержат липиды, располагающиеся между белковыми слоями. Идентифицировать мембраны этого типа можно по тому, что сходные по молекулярному весу и диаметру молекулы веществ проникают в них со скоростью, пропорциональной их коэффициентам распределения.

Интересно отметить, что если коэффициент распределения оказывается *слишком* высоким, то вещество легко проникает в клетку, но не может из нее

выйти (для того чтобы липиды перевести из мембраны в воду, пришлось бы затратить 60 ккал/моль).

По вопросам, связанным с проницаемостью мембран и равновесием, см. работу [1536], по кинетике и диффузии — работы [870, 1609]; по общим вопросам см. работу [412]. Имеющая практическое значение константа проницаемости  $K$  может быть вычислена для конкретного вещества и конкретной мембраны по следующему уравнению [929]:

$$\log(C_0 - 2C_b) = -\frac{2K}{2.303} t + \log C_0,$$

где  $C_0$  — первоначальная концентрация растворенного вещества,  $C_b$  — концентрация по другую сторону мембраны,  $t$  — время между измерениями. Это уравнение описывает процесс диффузии в квазистационарном состоянии, в условиях, когда две смешивающиеся жидкости разделены мембраной, проницаемой для растворенного вещества. График зависимости  $\log(C_0 - 2C_b)$  от времени представляет собой прямую линию с тангенсом угла наклона, равным  $-2K/2.3$ . Отсюда легко найти значения  $K$ . С другой стороны,  $K = ADD_c/VL$ , где  $A$  — площадь поперечного сечения мембраны,  $L$  — толщина мембраны,  $V$  — объем каждой из двух камер (по обе стороны мембраны),  $D$  — коэффициент диффузии,  $D_c$  — коэффициент распределения между раствором и мембраной. Эта формула дает также возможность определять другие важные характеристики.

Можно проследить связь проницаемости с коэффициентами распределения на примере сердечных гликозидов, представляющих непосредственный интерес для клиники. Так, из всех применяемых в клинике сердечных гликозидов активнее всего накапливается в организме дигоксин, который относится к наиболее липофильным соединениям этой группы. Он выделяется с желчью медленно и в значительной степени подвергается обратному всасыванию. Родственные дигоксину гликозиды, более гидрофильные из-за наличия в стероидной части молекулы дополнительных остатков сахара или дополнительных гидроксильных или карбоксильных групп, выделяются в желчь с большей скоростью. Так, дигоксин и ланатозид  $S$  могут служить примерами сердечных гликозидов, которые именно по этой причине оказались менее эффективными в качестве лекарственных веществ [1584].

Для измерения пассивной диффузии лекарственных веществ через искусственную мембрану из лецитина был создан простой прибор. Авторы утверждают, что результаты исследований, проведенных на этой модельной системе, совпадают с теми, которые получены на природных мембранах первого типа [1007]. О других работах с искусственными мембранами см. гл. 4, разд. 3 и гл. 12, разд. 1.

*Мембраны второго типа* отличаются от мембран первого типа тем, что содержат носители, которые обеспечивают более интенсивную диффузию. Транспортируемая молекула обратимо соединяется с носителем в мембране, который осциллирует между внутренней и наружной ее поверхностями (при этом носитель связывает или же, соответственно, теряет эту молекулу). Из-за малой толщины мембраны необходимо, чтобы эта осцилляция была очень слабой: даже небольшого сдвига заряда на соответствующем рецепторе достаточно для того, чтобы транспортируемая молекула освободилась. Принадлежность мембран к второму типу определяется следующими признаками: а) носитель насыщается небольшим количеством транспортируемого вещества в каждый данный момент, даже в тех случаях, когда градиент концентрации оказывается благоприятным для диффузии; б) процесс транспортировки не сопровождается потреблением метаболической энергии (при этом не наблюдается повышения интенсивности дыхания). Свойства, характерные для мембран второго типа, обычно обнаруживаются на отдельных участках нормальных мембран первого типа. К накоплению вещества против градиента концентрации такой перенос приводит редко.

Из примеров такой «облегченной» диффузии лучше всего изучен транспорт глюкозы в эритроцитах человека [1537].

Транспорт через митохондриальную мембрану регулируется тремя или более носителями. Один из них способствует проникновению анионов сукцината, D- и L-малата, малоната и мезо-тартрата, но не тартрата, малеата или fumarата. Второй переносчик служит посредником в переносе цитрата, *цис*-аконитата, изоцитрата, а также D- или L-тартрата, но не fumarата или малеата. И третий транспортирует аденозиннуклеотиды. Из неорганических анионов в митохондрии может проникать только фосфат-ион [307].

В мембранах третьего типа, самых сложных из всех мембран, разыгрываются процессы, связанные с потреблением энергии, причем с их помощью возможно накопление веществ против градиента концентраций, если в том возникает необходимость. Предполагается, что при этом, так называемом активном, транспорте растворенная молекула соединяется с носителем так же, как это происходит в мембранах второго типа, но здесь носитель претерпевает химическое изменение. Это происходит следующим образом. По одну сторону мембраны в результате химической реакции, протекающей с поглощением метаболической энергии (в форме АТФ), носитель видоизменяется таким образом, что он приобретает сильное сродство к подлежащей переносу молекуле и присоединяет ее к себе. Образовавшийся комплекс носителя с этой молекулой проходит через мембрану. Затем происходит вторая химическая реакция, в результате которой сродство носителя к транспортируемой молекуле уменьшается; она высвобождается и выделяется внутрь. Носитель же вновь проходит через мембрану, уже в обратном направлении,— либо в свободном состоянии, либо в комплексе с каким-нибудь другим веществом, и цикл повторяется. Модифицирование структуры носителя сопровождается потреблением метаболической энергии.

Примерами, иллюстрирующими функционирование мембран по третьему типу, могут служить следующие процессы: а) транспорт  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в клетках млекопитающих (гл. 4, разд. 3); б) всасывание и выведение разнообразных веществ, в ионизированной и неионизированной форме, почечными канальцами и в меньшей степени через эпителий желудочно-кишечного тракта; в) накопление бактериями неорганических ионов, сахаров и аминокислот; г) накопление иод-ионов щитовидной железой. На перенос каждых 18 ионов натрия через кожу лягушки потребляется 1 молекула кислорода [1606]. То же происходит в мочевом пузыре жабы и в кишечнике морской свинки. Имеются серьезные основания для того, чтобы считать, что фермент, известный под названием «калий- и натрий-зависимая аденозинтрифосфатаза», принимает непосредственное участие в активном транспорте  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через все мембраны [1337]. Имеются, кроме того, данные, позволяющие думать, что переносчиком катионов служит комплекс аденозинтрифосфата с магнием [947]. Между предполагаемым химическим механизмом этого процесса и хорошо изученным механизмом мышечного сокращения есть несомненное сходство. Многие слабительные (например, крушина, фенолфталеин, подofilлин) ингибируют всасывание натрия мембраной, выстилающей просвет кишечника (у живых кроликов), в результате чего в толстой кишке накапливаются соли натрия, а следовательно, и большое количество воды [1141].

Активация процессов всасывания наблюдается и для некоторых анионов, а также для более гидрофильных неэлектролитов. В данном случае, так же как и для катионов, эти процессы оказались высокоспецифичными. Так, например, в почечных канальцах (см. ниже) происходит реабсорбция из клубочкового фильтрата глюкозы, но не маннозы или арабинозы. Ответственный за это фермент ингибируется флоризинон, после чего поглощение глюкозы прекращается [1535]. Проницаемость почечных канальцев для катионов натрия (а возможно, и для воды) обусловлена наличием сульфгидрильных групп в мембране канальцев. Реабсорбция соли и воды в них

падает, если сульфгидрильные группы блокировать препаратами ртути. Блокирование сульфгидрильных групп и составляет тот механизм, который лежит в основе действия таких ртутьсодержащих диуретиков, как мерсалил (салирган). Было установлено [324], что *органические* препараты ртути, используемые в качестве диуретиков, выделяют ион ртути ( $Hg^{2+}$ ), который и осуществляет блокирующее действие. Это было выяснено в экспериментах на крысах, которым вводили внутримышечно  $Hg^{203}$ -хлормеродин. Самая высокая концентрация препарата в почке отмечалась в первый день, но диуретическое действие было слабо выражено. Максимальный диуретический эффект наблюдался на третий и четвертый дни после введения препарата; в это время в ткани экстирпированной почки не удавалось обнаружить и следов хлормеродина, зато ионы  $Hg^{2+}$  присутствовали в большом количестве.

Белки, подобные ферментам и ответственные за проницаемость мембран третьего типа, интенсивно изучались у бактерий; это так называемые пермеазы [1193]. Все пермеазы обладают высокой специфичностью в отношении своего субстрата. Предположение о белковой природе пермеаз основано на том, что их синтез ингибируется теми же веществами, которые ингибируют синтез белков. У *E. coli* были найдены пермеазы, специфичные в отношении галактозы, некоторых других углеводов и аминокислот. Из всех носителей лучше всего изучен белок, который вырабатывается бактерией *Salmonella typhimurium*. Его молекулярный вес равен 32 000; каждая молекула связывает один сульфат-ион (с константой диссоциации  $10^{-7}$  M) и транспортирует его через бактериальную мембрану в цитоплазму [1091]. В настоящее время эта пермеаза получена в кристаллическом виде [1092].

Мембраны третьего типа обнаружены и у высших растений. Так, корешки моркови поглощают хлористый натрий только при условии, что этот процесс сопровождается повышением потребления глюкозы [931].

По-видимому, мембраны третьего типа бывают вкраплены в нормальную мембрану первого типа. Мембрану третьего типа распознают: а) по легкости насыщения носителя (как в мембране второго типа), б) по возрастанию в процессе переноса метаболической активности (в отличие от мембран второго типа).

До сих пор еще очень мало используется принцип создания лекарственных средств с высокой проникающей способностью, которые обладали бы определенными чертами структурного сходства с метаболитами, транспорт которых осуществляется по механизму третьего типа. Вот пример того, чего можно достигнуть на этом пути: для увеличения проникающей способности алкилирующих азотистых ипритов в их молекулы вводили остатки аминокислот [156]; для одного из таких соединений — мелфелана (10.31) — были получены превосходные результаты в клинике при лечении миелобластом.

Имеется обзор по проницаемости мембран второго и третьего типа [1537].

В мембранах четвертого типа диффузия происходит через поры. Мелкие анионы, например анион хлора, зачастую проникают в клетки через водные каналы, в стенках которых располагаются положительно заряженные частицы. Катионы не проникают в эти каналы, так как отталкиваются одноименными зарядами. Существуют каналы также для неэлектролитов; о размерах пор в мембране можно судить по величине самой крупной из молекул, способных проникать в эти поры. По мере возрастания молекулярного веса в гомологических рядах наблюдается уменьшение способности молекул проникать через мембраны четвертого типа (и увеличение способности проникать через мембраны первого типа). Один из наиболее изученных примеров мембран четвертого типа представлен почечным клубочком (см. ниже). Клубочки пропускают все молекулы, по своему размеру меньшие, чем молекулы альбумина (мол. вес 70 000). Размеры пор составляют



приблизительно 3 мкм, и пуплин (мол. вес 5000), например, проникает в них с легкостью.

Старое представление о том, что через поры мембран первого типа способны проходить только молекулы воды, оказалось несостоятельным. Такие крупные молекулы, как молекулы белков, проникают через мембраны первого типа, по-видимому, путем *пиноцитоза*. При пиноцитозе мембрана образует впячивания, которые в конце концов дают пузырьки; эти пузырьки с каплей жидкости внутри отрываются и мигрируют в цитоплазму. Таким образом мембрана как бы обволакивает крупную молекулу, так что образуется сферическое тельце, которое затем отделяется. Благодаря этому получается, что вещества, которые раньше находились вне клетки, оказываются внутри нее. Такой же механизм может действовать и при выведении веществ из клетки наружу. Так, например, в проксимальных почечных канальцах реабсорбция молекул белка из его смеси с различными более мелкими молекулами происходит по механизму такого же примерно типа [1570].

За счет *фагоцитоза*, обладающего известным сходством с пиноцитозом, происходит перемещение еще более крупных частиц. Так, методом электронной микроскопии было отчетливо показано, что твердые частицы проходят через клеточные мембраны капилляров у млекопитающих, причем для этой цели, по-видимому, может использоваться вся поверхность капилляра. Ферменты и гормоны зачастую как бы выдавливаются из клеток в виде пузырьков, заключенных в липидную мембрану (образование этих пузырьков, вероятно, происходит по механизму, описанному в предыдущем абзаце). Именно таким образом пять гидролитических проферментов поджелудочной железы выдавливаются все вместе в виде так называемых «зимогеновых гранул» [1086]. Вероятно, такого же происхождения и пузырьки, в форме которых ацетилхолин выделяется нервными окончаниями [1530], а также гранулы норадреналина, выделяющиеся из мозгового вещества надпочечников [188].

*Проницаемость различных тканей млекопитающих.* За последние годы была проделана большая работа по исследованию сравнительной проницаемости тканей млекопитающих. Механизмы всасывания и распределения чужеродных органических веществ оказались здесь значительно более простыми, чем это наблюдается для природных субстратов и компонентов клетки. Роль липидных барьеров первого типа для многих чужеродных молекул выполняют следующие структуры: эпителий желудочно-кишечного тракта, эпителий почечных канальцев, гемато-энцефалический барьер и барьер между кровью и цереброспинальной жидкостью [1266].

Было обнаружено, что многие лекарственные вещества всасываются в желудке крыс в виде неионизованных частиц за счет обычной диффузии. Так, при повышении pH содержимого желудка улучшается всасывание лекарственных веществ основного характера, так как в этих условиях большее число молекул этих веществ находится в неионизованном состоянии. С другой стороны, при таком изменении pH уменьшается всасывание кислотных лекарственных препаратов, поскольку в неионизованном состоянии остается меньшее число молекул (о ионизации см. гл. 8, разд. 1). Тот факт, что липофильные свойства способствуют всасыванию, был доказан на примере трех барбитуратов с одинаковыми значениями  $pK_a$ , но разными коэффициентами распределения в системе липид/вода (табл. 5); оказалось, что всасывание усиливалось пропорционально увеличению коэффициентов распределения [232, 1268]. Характер всасывания в желудке человека (pH) в различных условиях оказался очень сходным с тем, что было обнаружено у животных. Лекарственные вещества, обладающие слабыми кислотными свойствами, например салициловая кислота, аспирин, тиопентал и многие другие барбитураты с липофильными свойствами, всасываются с легкостью,

тогда как вещества основного характера, например хинин, эфедрин и амидопирин, не всасываются [711].

Таблица 5

Зависимость всасывания лекарственных веществ в желудке от степени их липофильности [1268] <sup>1)</sup>

Лекарственное вещество	$pK_a$	A	$P_c$
Барбитал	7,8	4	< 0,001
Хинобарбитал (секобарбитал)	7,9	30	0,10
Тиопентал	7,6	46	3,30

<sup>1)</sup> A—количество вещества (в %), всосавшегося в желудке крысы из раствора (рН1), введенного перорально;  $P_c$ —коэффициент распределения в системе гептан/вода (рН1); чем выше значение  $P_c$ , тем более липофильным является вещество.

Эпителий, выстилающий стенки *тонкого кишечника* (опыты на крысах), также проницаем для лекарственных веществ в неионизованной форме, но задерживает соответствующие ионы. Существуют три барьера, которые лекарственное вещество преодолевает в следующем порядке: сначала мембрана клетки эпителия, обращенная в просвет кишечника, затем мембрана той же клетки, обращенная к капилляру, и, наконец, базальная мембрана капилляра. Для изучения этих процессов используются два экспериментальных приема. Один из них состоит в том, что отрезок кишки извлекают, завязывают его дистальный конец и помещают в специальную ванну [1348]. В другом варианте эксперимента весь кишечник извлекают из тела живой крысы и погружают в стеклянный баллон, содержащий раствор Рингера [367]. Оба метода дают одинаковые результаты [1007]. Сведения о кинетических и физико-химических основах процессов всасывания приводятся в работе [1062]. В среднем рН в мембранах тонкого кишечника выше, чем в мембранах желудка, поэтому из тонкого кишечника возможно всасывание ароматических, но не алифатических аминов, которые обладают более выраженными основными свойствами (химические основы этого явления рассмотрены в гл. 8, разд. 1). Было обнаружено, что всасывание жирорастворимых лекарственных веществ с высоким молекулярным весом в тонком кишечнике происходит быстрее, чем всасывание нерастворимых в жирах соединений, таких, как, например, мочевины или окиси дейтерия. Из этого следует, что всасывание лекарственных веществ в тонком кишечнике происходит, по-видимому, через участки с высоким содержанием липидов, а не через водные каналы. С повышением рН всасывание оснований усиливается, а всасывание кислот уменьшается, так же как и в желудке. Для веществ, степень ионизации которых не зависит от рН, скорость всасывания при разных значениях рН остается постоянной.

Скорость всасывания ионов из тонкого кишечника (у крыс) очень невелика и с течением времени падает. Данные о всасывании ионов из тонкого кишечника у человека представляли бы, несомненно, большой интерес, поскольку многие сильно ионизованные лекарственные вещества применяются внутрь — к ним относятся, например, производные четвертичных аммониевых оснований, блокирующие ганглии, а также тетрациклины, которые имеют структуру цвиттерионов (гл. 9, разд. 8) [712, 1269].

Всасывание природных субстратов, например L-аминокислот, глюкозы и уратида, из тонкого кишечника происходит с участием различных специфичных активных систем транспорта, которые могут действовать и против градиента концентраций и способны к насыщению. Этим же путем могут

транспортироваться из тонкого кишечника в плазму чужеродные вещества, близкие по структуре к природным субстратам, например немногочисленные неприродные сахара — по механизму, обеспечивающему транспорт глюкозы, а 5-фторурацил — по механизму, ответственному за транспорт урацила [1267].

Всасывание лекарственных веществ из *прямой кишки* (у крыс) осуществляется таким же образом, как из тонкого кишечника [1265].

Распределение лекарственных веществ между *плазмой крови и тканями* происходит в основном по тем же законам, что и описанное выше распределение между желудочно-кишечным трактом и плазмой крови [1475]. Однако способностью к такого рода свободной диффузии обладает только та часть лекарственного вещества, которая *не слишком прочно связана с белками плазмы*. Непрочно связанное лекарственное вещество может быть вытеснено из комплекса с белками другим лекарственным веществом, обладающим большим сродством к этим белкам. Накопление гистамина в тучных клетках объясняется действием внутриклеточного связывающего агента, тогда как 5-окситриптамином доставляется в тромбоциты по механизму активного транспорта.

Эпидермис служит барьером проницаемости для *кожи*. Разнообразные органические вещества диффундируют через кожу в количествах, пропорциональных их коэффициентам распределения в системе липиды/вода [1435].

Проницаемости *эритроцитов* у позвоночных животных посвящены многочисленные исследования. Некоторые сведения по этому вопросу уже приводились (табл. 4). Мембраны эритроцитов относятся обычно к первому типу, однако у некоторых видов животных наблюдается облегченный перенос определенных веществ, например глюкозы (у человека и приматов) [895]. Особенностью эритроцитов является их высокая проницаемость для неорганических анионов, которые обмениваются на бикарбонат-ион, теряющий затем воду и превращающийся в неионизованную двуокись углерода.

Во всех тканях, о которых до сих пор шла речь, мы имели дело с клеточной проницаемостью. Теперь мы перейдем к обсуждению вопросов, связанных с проницаемостью капилляров. В *капиллярах* кровеносной системы, так же как и в капиллярах почечных клубочков, мембраны принадлежат к четвертому типу, т. е. представляют собой пористые мембраны, пропускающие ионы и белки.

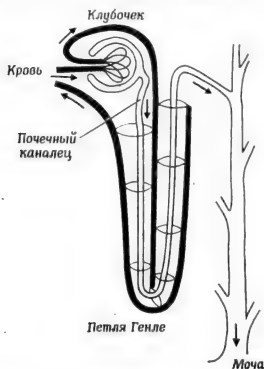
На фиг. 19 изображен нефрон, основная структурная единица *почки*. Кровь попадает в клубочки, которые, несмотря на большую пористость, задерживают почти весь белок и все низкодисперсные вещества. Почка человека вырабатывает ежедневно почти 185 л клубочкового фильтрата, но почти вся вода (за исключением 1,5 л), а также многочисленные растворенные в фильтрате вещества (некоторые из них играют важную роль в организме) подвергаются реабсорбции (обратному всасыванию). Мембраны почечных канальцев, через которые осуществляется эта реабсорбция, относятся к обычному первому типу; они пропускают жирорастворимые вещества в кровотоки или из него в соответствии с градиентом концентрации [1077, 1474]. В этих мембранах имеются также специализированные участки, в которых происходит активный транспорт различных органических ионов против градиента концентраций (о транспорте катионов см. работу [1131], о транспорте анионов — [1358]).

Механизма, способного обеспечить соответствующую реабсорбцию этих органических ионов, не существует. Важнейшей физиологической функцией канальцев является реабсорбция воды, бикарбонат-иона, хлорид-иона и других неорганических ионов.

Из двух сходных лекарственных препаратов труднее фильтруется клубочками тот, который прочнее связан с альбумином крови. Это означает, что пористость мембран играет лишь ничтожную роль в сравнении с силами

(электростатические, вандерваальсовы, водородные связи), связывающими лекарственное вещество с белками крови. В свою очередь связь с белком почки теряет свое значение в тех случаях, когда вследствие структурных особенностей лекарственного вещества оно оказывается объектом действия механизмов активного транспорта в почечных канальцах. Все эти обстоятельства надо иметь в виду при поисках более активных (т. е. эффективных в меньших дозах) лекарственных средств путем изменения их структуры.

Механизм выделения лекарственных веществ с желчью почти неизвестен. Для ионов имеется, по-видимому, система активного транспорта,



Фиг. 19. Структурный элемент почки человека.

а характер диффузии жирорастворимых нейтральных веществ позволяет предположить наличие мембраны первого типа. Однако молекулы соединений с молекулярным весом более 250, даже ипунли (мол. вес 5000), легко проникают из кровяного русла в желчь. Такой характер мембраны, по-видимому, необходим для обеспечения легкого транспорта билирубин-β-глобулинов. В мембранах паренхиматозных клеток печени поры очень крупные (в других животных клетках поры такой величины не встречаются) [1266].

Многие лекарственные вещества из кровяного русла попадают в *цереброспинальную жидкость* за счет простой диффузии со скоростями, примерно соответствующими их коэффициентам распределения в системе липиды/вода при pH 7,4 [232, 968, 983]. Меняя pH плазмы, можно изменить и градиент pH между кровью и цереброспинальной жидкостью (ЦСЖ). В таких случаях распределение между ЦСЖ и плазмой лекарственных веществ, степень ионизации которых не зависит от pH (например, сульфаниламид), остается неизменным; в то же время для лекарственных веществ, степень ионизации которых возрастает, отношение концентраций ЦСЖ/плазма понижается [1174]. Катионы и анионы проникают в ЦСЖ и в мозг чрезвычайно медленно. К числу немногих исключений из этого правила относятся фенилаланиновые кислоты, применяемые для лечения трипаносомоза. Возможно, для их переноса используется механизм, предназначенный для транспорта фосфатов. Часто лекарственные вещества независимо от скорости их проникновения в ЦСЖ исчезают из нее очень быстро. Причины этого явления остаются невыясненными [1089].

Мозг тоже защищен мембраной, функционирующей по первому типу. Со сколько-нибудь заметной скоростью через эту мембрану могут проникать только вещества, которые характеризуются высокими значениями коэффициента распределения в системе липиды/вода. Лекарственные вещества, обладающие хорошей растворимостью в жирах, например тиопентал, диффундируют так быстро, что скорость эта, по-видимому, лимитируется только скоростью кровообращения в мозгу. Действительно, мозг, по-видимому, способен успешно конкурировать с другими тканями за препараты, обладающие сильно выраженными липофильными свойствами. Эта мембрана и есть *гемато-энцефалический барьер*, она выстилает капилляры мозговых сосудов. Пройдя этот барьер, лекарственное вещество должно еще проникнуть через мембраны в самом мозгу.

Известно, что различные лекарственные вещества накапливаются в разных частях мозга по-разному, однако до сих пор неизвестно, какие именно мембраны ведают такого рода избирательностью распределения. Анилин, многие сульфамидные препараты, амидопирин и липофильные барбитураты легко проникают через гемато-энцефалический барьер, тогда как ацетанилид и барбитал преодолевают его медленно, а пенициллин и салицилаты едва ли проникают вообще. Если же в мембранах гемато-энцефалического барьера развивается воспалительный процесс, то они становятся проницаемыми для большего числа веществ. Известно, что 5-окситриптамиин как таковой не проникает из крови в мозг, однако 5-окситриптофан, подобно другим аминокислотам, оказался способным преодолевать этот барьер по механизму второго и третьего типа. Поскольку в мозгу 5-окситриптофан декарбоксилируется под действием ферментов с образованием 5-окситриптамина, этот последний легко можно вводить в мозг экспериментальных животных в виде 5-окситриптофана.

Барьеры проницаемости существуют *внутри животных клеток* — это, видимо, митохондриальные мембраны и мембраны эндоплазматической сети, функционирующие в общем по механизму первого типа, но содержащие участки, функционирующие по механизму либо второго, либо третьего типа, а также ядерная мембрана, которая, вероятно, относится к четвертому, пористому, типу.

**Проницаемость различных других клеток.** Бактерии имеют поверхностную мембрану, ограничивающую их цитоплазму снаружи; по-видимому, эта мембрана — единственный барьер проницаемости у бактерий. Проницаемость этой мембраны исследовалась на *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lysodeikticus* и *Sarcina lutea* [1014]. Все они принадлежат, по-видимому, к мембранам первого типа. Органические соединения, содержащие более четырех групп, способных к образованию водородных связей, а также ионы, несущие с собой более четырех молекул воды, неспособны со сколько-нибудь значительной скоростью проникать через эти мембраны (гл. 1, разд. 3, 6). В то время как лизин просто диффундирует через мембраны, для более гидрофильных аминокислот, например для глутаминовой кислоты и гистидина, существует только одна возможность проникать через барьер — активный транспорт [556]. Это относится и к глюкозе.

Мембраны диатомовых водорослей и хитиновый покров членистоногих относятся к четвертому типу.

Теперь мы перейдем к рассмотрению тех случаев избирательного действия на *насекомых*, в которых оно несомненно, зависит от различий в проникающей способности жирорастворимых соединений. Исключительно высокая проницаемость покрова насекомых служит фактором, определяющим избирательность действия обычных инсектицидов (имеется в виду избирательность действия в отношении насекомых и млекопитающих). Гексахлоран, пиретрин и ДДТ, будучи введенными парентерально, одинаково токсичны и для млекопитающих, и для насекомых. Однако, осаждаясь на поверхности тела, эти вещества почти не причиняют вреда млекопитающим, тогда как насекомые при поверхностном контакте с избытком токсического вещества поражаются не меньше, чем при парентеральном введении [1559]. Так, LD<sub>50</sub> для ДДТ при действии на таракана (*Periplaneta americana*) составляет 20—30 частей на 1 млн. независимо от способа обработки (инъекции или опыливание), тогда как для крысы LD<sub>50</sub> равняется 50 частям на 1 млн. при парентеральном введении и 3000 частям на 1 млн. при контактном способе воздействия. Эти примеры наглядно иллюстрируют относительно малую проницаемость эпидермиса млекопитающих для хлорированных инсектицидов.

Исследование контактного действия гексахлорана и трех его изомеров на долгоносика-каландрину показало, что  $\gamma$ -изомер проникает в организм

насекомого в 50 раз быстрее, чем  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\delta$ -изомеры, а следовательно, и накапливается в нем в значительно больших количествах. И в самом деле токсичным для долгоносика оказался только  $\gamma$ -изомер [79].

Шрадан токсичен для многих насекомых, но тараканы защищены от его действия барьером проницаемости. Механизм токсического действия шрадана заключается в ингибировании холинэстеразы в центральной нервной системе (гл. 10, разд. 3). При обработке энцестерифицированных тараканов (с питактным нервным тлеком) окисленным шраданом активность холинэстеразы в нервной цепочке уменьшается всего на 9%. Однако если нервную цепочку обнажить и перед обработкой сделать в ганглиях глубокие проколы, то активность холинэстеразы уменьшается не менее чем на 70% [1071].

Мембраны растительных клеток, по-видимому, сходны с мембранами животных клеток. Плазматическая мембрана не является таким эффективным барьером, как митохондриальные мембраны или мембраны эндоплазматической сети и вакуолей (которых, кстати, нет в животных клетках). В растениях передвижение жидкостей к корням представляет собой почти исключительно процесс физической диффузии, не связанный с биохимическими механизмами, но мембраны, видимо, имеют специализированную структуру.

Под влиянием гидразида малеиновой кислоты в растительных клетках происходит разрыв хромосом. На клетки млекопитающих это соединение такого действия не оказывает. Так как химический состав хромосом растений и хромосом млекопитающих одинаков, то надо полагать, что эта избирательность действия гидразида связана с различиями в проницаемости [115].

В заключение еще несколько слов о том, каким образом разные ткани у высших растений и высших животных оказываются способными избирательно накапливать то или иное вещество. Ясно, что иногда определенную роль в этом процессе играют различия pH (например, в желудке и почках). В некоторых случаях за избирательное накопление бывает ответствен какой-нибудь специфический механизм выделения или всасывания (по механизму переноса второго или третьего типа). В тех случаях, когда всасывание зависит от коэффициента распределения в системе липиды/вода, оно, по-видимому, имеет разную минимальную скорость в разных тканях. Кроме того, в клетках имеются специфические соединения (мало еще изученные), способные связывать те или иные вещества и, вероятно, также играющие важную роль в избирательном накоплении.

Более подробно о передвижении молекул через мембраны см. в [651, 829, 1367].

### 3. «Места потерь» и синергизм

Активное вещество может частично теряться, прежде чем достигнет места своего действия, т. е. рецептора. Известно три основных механизма потерь: депонирование, выведение и химическая инактивация (фиг. 18). Вельдстра [1455] ввел общее понятие «места потерь» и высказал предположение, что в основе хорошо известного синергидного действия биологически инертных соединений лежит блокирование этих «мест», в результате чего большее количество лекарственного вещества оказывается способным достигать рецептора [1455].

Примером того, что мы понимаем под «местами потерь», служит депонирование лекарственных веществ, обладающих высокой растворимостью в липидах, например тиобарбитуратов, дибенамина и дибензилина в жире. Депонирование в данном случае связано просто с различиями в распределении этих веществ в системах липиды/вода [711, 1191]. Стимуляторы роста растений, например  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота, связываются в проростках гороха запасными жировыми веществами; эти потери можно предотвратить

воздействием биологически инертных, но обладающих большей растворимостью в жирах аналогов этих соединений, например декагидронафтилуксусной кислотой [1455].

Другой пример (также у млекопитающих) — рибонуклеиновая кислота, обладающая сродством к веществам с сильно выраженными основными свойствами. Так, противомаларийное средство мепакрин (8.27), введенное внутривенно, в основном накапливается, не причиняя вреда, в ядрах клеток легочных капилляров, откуда постепенно поступает в кровь [666].

Многие белки, содержащиеся в крови млекопитающих, способны связывать лекарственные вещества, но самым эффективным из них в этом смысле является альбумин. Ни фибриноген, ни  $\gamma$ -глобулин не соединяются с лекарственными веществами;  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины — это обычно ферменты, обладающие сродством почти исключительно только к своим субстратам (правда,  $\alpha$ -глобулин прочно связывает билирубин, а  $\beta$ -глобулин соединяется с железом, цинком и медью). Липопротеиды, близкие по структуре к глобулинам, способны соединяться со стероидными гормонами (липид-липидное взаимодействие). Но во всех этих случаях связывание происходит с природными метаболитами. Из лекарственных веществ, по-видимому, только сурамин соединяется с глобулином.

В то же время сывороточный альбумин, как мы уже сказали, служит местом депонирования для многих лекарственных веществ, из которых большинство представляют собой слабые кислоты. Из данных, приведенных в табл. 6, явствует, что сродство к альбумину не только варьирует у разных видов, но зависит также от химической структуры лекарственных веществ, варьируя даже у близких друг другу соединений. У человека сывороточный альбумин часто удерживает лекарственные вещества прочнее, чем это наблюдается для других млекопитающих, а метаболизм лекарственных веществ происходит у него с меньшей интенсивностью.

Таблица 6

Связывание лекарственных веществ сывороточным альбумином [72, 1221]

Вид	Количество лекарственного вещества, оставшегося несвязанным, %			
	бензальдегидциллин	клоксациллин	сульфадиазин	сульфизоксазол
Человек	49	—	67	16
Лошадь	59	30	—	—
Кролик	65	22	45	18
Крыса	—	—	55	16
Мышь	—	—	93	69

В крови человека на сывороточный альбумин приходится около 4% всех белков. Молекулярный вес его составляет 69 000. Он содержит 109 катионных и 120 анионных групп. При pH 7,3 молекула альбумина несет суммарный отрицательный заряд, однако связывает альбумин главным образом анионы (причем в соотношении 1 : 1). Это означает, что катионные группы в нем гораздо более доступны. Это связывание анионов подчиняется закону действия масс [831, 859]. Отсюда следует, что  $C_1$  (концентрация лекарственного вещества в плазме) и  $C$  (концентрация лекарственного вещества в водной фазе плазмы) связаны между собой следующим соотношением:

$$C_1 = C \left( w + \frac{\beta p}{K + C} \right),$$

где  $w$  — содержание воды в плазме;  $\beta$  (коэффициент насыщающей способности) — максимальная удельная способность альбумина плазмы связы-

вать лекарственное вещество ( $\mu\text{моль/г}$ );  $p$  — содержание альбумина в плазме ( $\text{г/л}$ ),  $K$  — константа диссоциации комплекса лекарственное вещество — белок ( $\mu\text{моль/л}$ ). Значения  $w$  и  $p$  несколько варьируют у разных людей, но не зависят от лекарственного вещества. Значения  $K$  варьируют от 900 для сульфадиазина, который связывается слабо, до 11 для сульфадиметоксина (мадрибон, см. гл. 6, разд. 3), который связывается прочно и потому малоэффективен. До тех пор пока с альбумином не будет связано более 95 % введенного лекарственного препарата, почечный клиренс этого препарата не уменьшается, и сывороточный белок играет роль депо, а не «места потерь».

Эффект от применения лекарственного вещества может возрасти, иногда в угрожающей степени, в том случае, если другое лекарственное вещество вытесняет первое из его комплекса с сывороточным альбумином [1073]. Так, аспирин вытесняет антикоагулянт фенилиндандион, что связано с опасностью кровотечения.

Из лекарственных веществ с сывороточным альбумином легче всего связываются жирные кислоты; эта связь тем прочнее, чем длиннее углеводородная цепь (эффект Ван-дер-Ваальса, см. гл. 5, разд. 1). Хорошо связываются с альбумином и ароматические кислоты, сульфамидные препараты, и барбитураты, особенно те из них, которые содержат липофильные заместители (приложение III). К числу прочно удерживаемых сывороточным альбумином соединений относятся также анионы подсодержащих соединений, используемые в качестве рентгеноконтрастных веществ (например, диодон). Прочно удерживаются альбумином и красители анионного типа (а их известно огромное число), особенно те из них, в молекулах которых имеется одно или два фенильных кольца, не содержащих полярных заместителей [831]. Соединяются с сывороточным альбумином и некоторые нейтральные вещества — нафтохиноны, кумарины, индандионы, лактоны, в том числе сердечные гликозиды, а также порфирины. Из немногих соединений катионного типа, способных связываться с альбумином, можно назвать основные красители. Из многочисленных простых по структуре соединений — как лекарственных препаратов, так и метаболитов — не связывающихся с альбумином, можно назвать эфир, глюкозу и мочевины.

Для более подробного ознакомления с вопросами, касающимися связывания лекарственных веществ белками крови, см. работы [588, 1424].

Изменения, которым подвергаются лекарственные вещества в процессе метаболизма, сводятся к образованию или разрыву ковалентных (определение см. в гл. 5, разд. 1) связей, а это означает, что они обратимы в гораздо меньшей степени, чем процессы накопления. Если многие гидрофильные лекарственные вещества выделяются из организма млекопитающих в неизменном виде, то существуют и такие, которые образуют «конъюгаты», т. е. соединяются с низкомолекулярными метаболитами, в комплексе с которыми и выделяются. Примером могут служить слабые органические кислоты, неспособные ионизоваться при низких значениях pH мочи; их выведение было бы затруднено, если бы они не связывались с глицином, после чего они быстро выводятся почками. Некоторые амины в организме ацетилируются, однако большинство из них, так же как и фенолы, конъюгируют с глюкуроновой или серной кислотами. Не менее 90 % введенного кроликам фенола выделяется в виде смеси примерно равных количеств *O*-фенилсерной и фенилглюкуроновой кислот. Глюкурониды аминов и фенолов легко гидролизуются глюкуронидазами, содержащимися в тканях. Таким образом, образование глюкуронидов может в известных обстоятельствах замкнуть цикл. Так, *o*-аминофенолы, которые являются канцерогенными соединениями, обезвреживаются печенью, в которой они превращаются в соответствующие глюкурониды. Однако если активность  $\beta$ -глюкуронидазы в тканях мочевого пузыря достаточно высока, то *o*-аминофенол регенерирует и соответственно возрастает вероятность малигнизации [213].



Лекарственные вещества с более выраженными липофильными свойствами, нежели описанные выше соединения, реабсорбируются в почечных канальцах. Если бы они не подвергались деструкции в процессе метаболизма, то после однократного введения лекарственного вещества оно бы оставалось в организме в течение многих недель. Однако обычно эти вещества аккумулируются в печени в особой мембранной органелле. Эта органелла, так называемая эндоплазматическая сеть, содержит большое число разнообразных обезвреживающих ферментов, которые химически изменяют их, превращая в более гидрофильные соединения. После этого они выделяются либо как таковые, либо (если в них была введена оксигруппа, карбоксильная группа или первичная аминогруппа) в конъюгированной форме. Так, например, толуол окисляется ферментами в эндоплазматической сети в бензиловый спирт. Из него в результате дальнейшего окисления в цитоплазме образуется бензойная кислота, которая взаимодействует с глицерином в митохондриях; возникающий в результате бензоилглицин (гиппуровая кислота) быстро выводится с мочой.

Из этого примера видно, что процессы метаболической деградации протекают не только в эндоплазматической сети. Следует, однако, отметить, что эндоплазматическая сеть обладает в этом отношении наиболее многообразными функциями. Эндоплазматическую сеть можно выделить с помощью дифференциального ультрацентрифугирования гомогенатов печени. Этим методом ее отделяют от соседствующих с ней рибосом, в которых осуществляется синтез белка [1237]. В процессе очистки эндоплазматическая сеть расщепляется на небольшие сферические образования (микросомы), не утрачивая при этом своей ферментативной активности. Многочисленные ферменты, связанные с микросомами, способны осуществлять реакции окисления, восстановления, гидролиза и по меньшей мере один синтез [530, 578]. Ниже приведены некоторые из типичных окислительных реакций, протекающих с участием этих ферментов (в каждом процессе участвует по крайней мере один фермент):

1) С-гидроксилирование алифатических соединений ( $RCH_3 \rightarrow RCH_2OH$ ); обычными субстратами служат боковые цепи барбитуратов;

2) С-гидроксилирование ароматических соединений, например, превращение ацетанилида в *n*-оксиацетанилид;

3) N-окисление ( $R_3N \rightarrow R_3NO$ ); хорошими субстратами служат и алифатические, и ароматические третичные амины;

4) S-окисление ( $R_2S \rightarrow R_2SO$ ), например, окисление хлорпромазина;

5) O-деалкилирование ( $ROC_2H_5 \rightarrow ROH + CH_3CHO$ ); хорошо известными субстратами служат фенацетин и кодеин;

6) N-деалкилирование ( $RNHCH_3 \rightarrow RNH_2 + HCHO$ ), например, превращение метиланилина в анилин;

7) дезаминирование ( $RCH(NH_2)CH_3 \rightarrow RCOCH_3 + NH_3$ ), например, метаболическое превращение боковых цепей амfetамина;

В эндоплазматической сети присутствует по меньшей мере два восстанавливающих фермента: нитроредуктаза ( $-NO_2 \rightarrow -NH_2$ ), субстратом которой служит хлорамфеникол, и азоредуктаза, которая превращает прontosил в сульфаниламид. Конъюгация с глюкуроновой кислотой происходит в эндоплазматической сети, конъюгация же с другими соединениями осуществляется в других частях клетки.

Броди [227] убедительно доказал, что в функции этих ферментов входит разложение токсичных веществ, в норме попадающих в организм с пищей или образующихся в результате жизнедеятельности бактерий в кишечнике. Возможно, что эти ферменты, кроме того, участвуют в метаболизме стероидов. Они не обнаруживают строгой специфичности в отношении субстрата и способны поэтому воздействовать на многие новые для организма лекарственные вещества.

Большинство реакций, о которых шла речь, нуждается для своего осуществления в специальном цитохроме, известном под названием Р-450, а также в НАДФ (кофермент) [578]; таким образом, эти ферменты отличаются от НАДФ-зависимых ферментов, играющих столь важную роль в промежуточном обмене. Более того, эти ферменты не оказывают действия ни на нормальные первичные субстраты, ни на промежуточные продукты их метаболизма, что отчасти объясняется слишком сильно выраженными гидрофильными свойствами всех этих веществ, вследствие чего они не способны проникать в эндоплазматическую сеть.

Ферменты эндоплазматической сети, ответственные за детоксикацию, атакуют молекулы чужеродных веществ, в некоторых случаях могут вызывать увеличение токсичности. Так, например, диметилнитрозамин превращается в вещество (возможно, диазометан), способное метилировать гуанин РНК с образованием 7-метилгуанина. В результате этого превращения в печени развивается острый некроз [952]. Дополнительно по этим вопросам см. гл. 10, разд. 5 («Летальный синтез»).

Обзор реакций окисления и восстановления микросомными ферментами см. в работе [578].

В качестве источника ферментов эндоплазматической сети для различных экспериментов чаще всего использовали печень крыс. Было доказано, что у человека и у крыс эти ферменты качественно сходны, но функционируют с различными скоростями — одни быстрее, другие медленнее [865]. В связи с этим было высказано предположение, что значительные различия в величине эффективной дозы для человека и лабораторных животных связаны именно с различиями в скоростях деструктивных реакций, а вовсе не с различиями в чувствительности соответствующих органов-мишеней. Из этого следует, что данный фармакологический эффект должен реализовываться у всех млекопитающих при одном и том же уровне лекарственного вещества в крови, хотя дозы, необходимые для достижения этого уровня, у разных видов сильно различаются [230]. Количественные данные, полученные в опытах с применением мышечного релаксанта каризопрода (табл. 7), подтверждают эту гипотезу. Однако пока имеется слишком мало данных для того, чтобы судить о том, может ли эта гипотеза быть приложимой к более широкому кругу явлений.

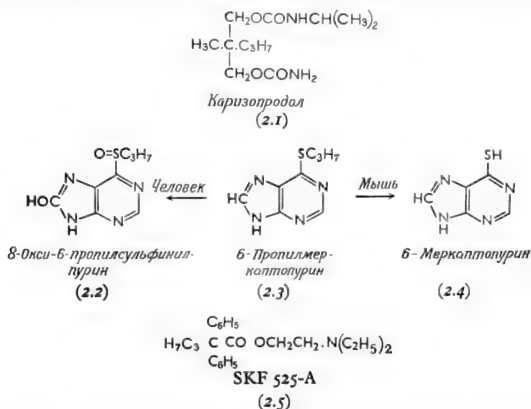
Таблица 7

**Сходство и различие в действии мышечного релаксанта каризопрода (2.1) (внутрибрюшинное введение 0,2 г/кг) в опытах на разных видах животных**

Вид	Длительность эффекта (потеря рефлекса выпрямления), час	Содержание в плазме после прекращения действия, мкг/мл
Котика	10	125
Кролик	5	100
Крыса	1,5	125
Мышь	0,2	130

В рамки этой гипотетической схемы, безусловно, не укладываются те случаи (возможно, не столь уж частые), когда у двух разных видов какой-то основной метаболический путь оказывается неодинаковым. Так, например, у мыши 6-пропилмеркаптопурин (2.3) гидролизуетс с образованием 6-меркаптопурина (2.4); поэтому соединение (2.3) обладает выраженным канцеростатическим действием на мышах. В организме человека происходит не гидролиз, а двукратное окисление 6-пропилмеркаптопурина (2.3), причем образующийся в результате продукт (2.2) канцеростатическим действием не обладает [473].

Видовые различия в действии лекарственных веществ связаны также с особенностями реакций конъюгации у разных животных. Классическим примером подобного рода дивергенции путей конъюгации служит конъюгация фенилуксусной кислоты. У человека и шимпанзе (только) фенилуксусная кислота конъюгирует с глутамином, у большинства других млекопитающих — с глицином и глюкуроновыми кислотами, а у кур — с орнитином [1545]. Приведем еще один пример видовых различий в путях метаболизма. Кролики поедают листья белладонны безнаказанно, так как в их сыворотке содержится неспецифичная эстераза, способная гидролизовать алкалоиды группы тропина, тогда как у других млекопитающих этот фермент отсутствует.



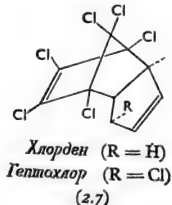
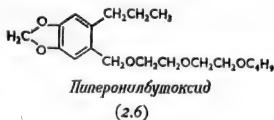
**Синергизм.** Диэтиламиноэтиловый эфир дифенилпропилуксусной кислоты, известный под названием SKF525-A (2.5), представляет собой одно из немногих соединений, которые являются синергистами в отношении множества разнообразных лекарственных соединений. Механизм его действия заключается в том, что оно предотвращает разложение этих веществ под действием ферментов эндоплазматической сети. И дело здесь, по-видимому, не в том, что мембрана эндоплазматической сети под действием SKF525-A становится непроницаемой для липофильных веществ. По-видимому, в основе действия SKF525-A лежит неконкурентное торможение всех процессов гидроксирования и конкурентное торможение гидролитических реакций [578]; SKF525-A блокирует процессы, которые служат причиной потерь, и в этом смысле является примером синергиста самого обычного типа [1455].

В тех случаях, когда инактивация в процессе метаболизма происходит не в эндоплазматической сети, ее можно ингибировать другими лекарственными средствами. Так, известно немало случаев, когда больные погибали после того, как им одновременно вводили ингибитор моноаминоксидазы (фермента, содержащегося в митохондриях), а затем лекарственное вещество из класса аминов, которое само по себе нетоксично для организма. Далее, введение ингибитора фенелзина (фенилэтилгидразин) (6.41) приводило к смерти больных, если они перед этим получали в обычных терапевтических дозах амфетамин, петидин, нортритилин и амитриптилин или же употребляли в пищу богатые аминами продукты — сыр, мясной или дрожжевой экстракт, конские бобы. Во всех описанных выше случаях явления синергизма приводили к крайне неблагоприятным последствиям, однако известны случаи и бо-

лее благоприятного действия синергистов. Наиболее выдающиеся из них будут приведены ниже.

Потери путем выделения можно иногда предотвратить, используя для этой цели аналоги лекарственных веществ, имеющие сходное распределение зарядов. Так, например, пенициллины принадлежат к классу кислот, обладающих некоторой растворимостью в липидах и проникающих через проксимальные почечные каналы за счет механизма облегченного переноса. Выведение пенициллина в сильной степени блокируется двумя физиологически инертными его аналогами: пробенецидом (бенемид, *n*-дипропилсульфамилбензойная кислота) и менее эффективно каринамидом (каронамид, *n*-бензилсульфамилбензойная кислота), который начали применять раньше пробенецида. Неуклонное удешевление новых препаратов из группы пенициллина делает излишним использование пробенецида, но изучение принципа действия таких соединений по-прежнему представляет интерес.

Потери в результате ферментативной деструкции можно во многих случаях предотвратить. Так, например, в составе аэрозолей с пиретринами (применяемых для уничтожения мух) обычно содержится синергист — производное пипериновой кислоты. Видимо, эти вещества способны предупреждать гидролитическое расщепление пиретринов (которые представляют собой сложные эфиры) в организме насекомого [1551]. Из этого класса синергистов наиболее широкое употребление находит пиперонилбутоксид (2.6).



Синергический эффект можно получить двумя способами. Суть первого способа состоит в том, что вещество, обеспечивающее синергический эффект, вводят извне. Так, например, хлорден (2.7) нетоксичен для комнатных мух. Дело в том, что хотя в организме этих мух хлорден превращается в соответствующий эпоксид, токсичный для некоторых других насекомых, но все дело в том, что у мух имеется фермент, способный гидроксिलировать эпоксиды, в результате чего получаются вещества, биологически инертные. Однако если в состав аэрозоля, кроме хлордена, ввести препарат производного пипериновой кислоты — сезамекс, — который ингибирует реакцию гидроксילирования эпоксида, то хлорден становится не менее токсичным, чем его монохлорпроизводное, гептахлор (2.7). Примером синергизма, обусловленного «внутренними» причинами, может служить гептахлор. Высокая токсичность гептахлора обусловлена наличием атома хлора ( $R = Cl$ ) в кольце молекулы (2.7), блокирующего положение, по которому в отсутствие хлора происходит гидроксילирование (гидроксилированный продукт из организма выводится быстрее). Хорошо разработан этот прием введения блокирующих групп для

стероидных препаратов; в данном случае блокирующие группы вводятся для предупреждения окислительного расщепления [1200].

Мы привели многочисленные примеры синергизма, обусловленного блокированием тех мест, по которым могут происходить изменения, способствующие потерям. Существуют, однако, и другие разновидности синергического действия, к которым относятся последовательное блокирование и вмешательство в мутационный процесс у бактерий. О методе последовательного блокирования, т. е. пингирования двух или более последовательных процессов обмена, речь пойдет в гл. 6, разд. 5. Попытки повлиять на рост мутантов (задерживать их рост) основаны на наблюдении, что у мутанта, резистентного по отношению к какому-либо одному лекарственному веществу, как правило, нелегко вызвать мутацию, в результате которой оно приобретает устойчивость еще и к другому. Именно по этой причине такое слабое противотуберкулезное средство как *п*-аминосалициловая кислота включается в комплекс лекарственных средств при лечении туберкулеза изониазидом и стрептомицином (вопросы, связанные с резистентностью к лекарственным веществам, обсуждаются в гл. 3, разд. 5; здесь же описан своеобразный мутант, устойчивый к действию не менее четырех различных лекарственных препаратов).

Эффект генетически обусловленной утраты фермента, ответственного за процесс детоксикации, также напоминает синергизм. Как следствие этого у больных развивается слишком сильная реакция даже на низкие терапевтические дозы лекарственного вещества (гл. 6, разд. 7). Что касается сенсibilизации к определенным лекарственным препаратам, то это явление совершенно иного порядка; симптомы такой сенсibilизации несколько не похожи на то, что наблюдается при синергизме.

*Индукция синтеза ферментов, разрушающих лекарственные вещества.* Выше мы приводили примеры непредвиденного усиления эффекта дозы, когда оказывалось, что лекарственное вещество блокирует фермент, способный в обычных условиях вызывать детоксикацию второго лекарственного вещества, вводимого одновременно с первым (так, например, действует фенелзин, введенный как петидином). Теперь мы рассмотрим противоположный случай — *ослабление эффекта дозы*, обусловленное тем, что лекарственное вещество оказывается способным индуцировать синтез ферментов *эндоплазматической сети* (микросомных ферментов) [349]. Одно из немногочисленных лекарственных соединений подобного действия, способных индуцировать синтез избыточных количеств этих ферментов, — фенилбутазон. В результате введения фенилбутазона складывается такое положение вещей, что обычная суточная доза лекарственного вещества с течением времени дает прогрессивно уменьшающийся эффект, что связано с возрастанием скорости расщепления лекарственного соединения. Так, через 24 час после введения 0,1 г/кг фенилбутазона концентрация его в плазме крови собаки составляла 100 мкг/мл; однако через 5 дней (при ежедневном введении той же дозы) концентрация фенилбутазона в крови падает до 15 мкг/мл. Аналогичным образом в опытах на мышах и крысах было показано, что в результате регулярного введения фиксированных доз различных барбитуратов сон у животных становился все менее продолжительным. Такая индукция синтеза фермента, разрушающего барбитураты, происходит и в организме человека. В специальных экспериментах было показано, что количество соответствующего фермента в эндоплазматической сети действительно возрастает: животным вводили азокраситель в течение нескольких дней вплоть до того момента, когда выделение его резко уменьшилось, а затем определяли содержание фермента [1154]. В одном эксперименте на собаках было обнаружено, что количество фермента достигало нормы только по истечении 10 недель. Далее, воздействие массивными дозами какого-либо лекарственного вещества может стимулировать синтез фермента, способного расщеплять другое лекарственное вещество, введенное одновременно с первым или много дней спустя [1185]. Так, напри-

мер, фенилбутазон, а также некоторые барбитураты увеличивают у человека скорость метаболизма антикоагулянтов, принадлежащих к группе кумарина. В связи с этим может наступить ухудшение состояния (что нередко и случается) у больных, которых лечат антикоагулянтами и которые одновременно получают барбитураты.

Аналогичный эффект отмечался также для нормального метаболизма стероидных гормонов. Так, было обнаружено, что в результате длительного введения дифенилгидантоина больным увеличивалось выделение 6-оксикортизола с мочой. Предполагается, что это должно повлечь за собой некоторое истощение запасов глюкокортикоидов в мозгу [1518].

Некоторые хлорированные инсектициды оказались самыми активными индукторами синтеза ферментов, разлагающих лекарственные вещества. Небольшие дозы ДДТ и гексахлорана могут способствовать выработке у лабораторных животных высокой степени устойчивости к действию других агентов. Следовательно, применять эти инсектициды в тех случаях, когда предполагается проводить на животных опыты по испытанию тех или иных лекарственных препаратов, ни в коем случае нельзя. Кроме того, известно, что хлорированные инсектициды (например, хлордан) способствуют ускорению метаболизма прогестерона, эстрадиола и тестостерона. В связи с этим некоторые исследователи считают, что существует опасность нарушения баланса стероидных гормонов в организме человека в результате длительной аспирации даже ничтожных количеств хлорированных инсектицидов. До настоящего времени, однако, сколько-нибудь серьезного подтверждения этого предположения получено не было. Действие этих антагонистов-индукторов, например фенобарбитала и 3-метилхолантрена, первично направлено на РНК-полимеразу. По мере возрастания активности РНК-полимеразы происходит ускорение синтеза РНК и в конечном счете образуется больше ферментов, способных разлагать лекарственные вещества [565].

Более подробные сведения об индукции синтеза ферментов, связанных с эндоплазматической сетью, имеются в работах [349, 577, 578]. Другие проблемы, связанные с индукцией, обсуждаются в гл. 4, разд. 3.

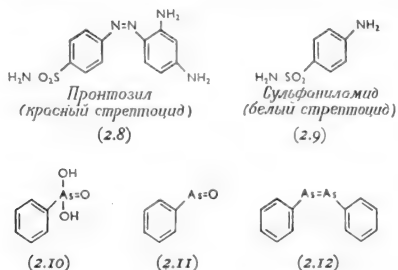
#### 4. Превращения веществ, предшествующие их действию

Бывает и так, что предполагаемый токсический агент в действительности является *протоксическим* агентом и только после *введения* в организм превращается в активное токсическое вещество, способное взаимодействовать с рецепторами. Так, например, первый из сульфамидных препаратов, прontosил (красный стрептоцид) (2.8), превращается в истинное лекарственное вещество только после восстановительного расщепления, в результате которого образуется *n*-аминобензолсульфамид (2.9) (сульфаниламид). После того как выяснилось, что истинным активным соединением является (2.9) [1434], его стали применять в клинике вместо (2.8). В дальнейшем, модифицируя молекулу (2.8), исследователям удалось получить большое число новых чрезвычайно активных соединений; при этом должно неукоснительно соблюдаться одно условие: в молекулах новых соединений *первичная* аминогруппа должна находиться в *пара*-положении к сульфамидной группе. Таким образом, отпала необходимость использования промежуточных протоксических агентов, что связано с определенными трудностями и потерями.

Ранее было обнаружено, что фениларсеновые кислоты, например (2.10), превращаются в организме в соответствующие арсеноксиды, например (2.11), которые и представляют собой активные соединения [463]. Как это ни странно на первый взгляд, но это открытие не повлекло за собой замену во всех случаях кислот арсеноксидами.

Дело в том, что эти соединения по-разному распределяются в организме. Так, например, было доказано, что при трипаносомозе и нейросифилисе

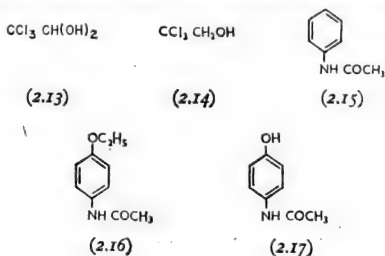
выгодно применять арсеновые кислоты, которые проникают к пораженному участку в центральной нервной системе и там восстанавливаются с образованием активного лекарственного вещества. Арсенобензолы, например (2.12), превращаются в активные соединения только после окисления в арсеноксиды (2.11) [1465].



В США, после того как это было выяснено, были созданы такие лекарственные вещества из группы арсеноксидов, как оксофенарсин (мафарсен), которые стали применять при лечении сифилиса вместо арсфенамина (сальварсана), так как при этом удавалось получить терапевтический эффект, используя значительно меньшие дозы [1412] (гл. 10, разд. 1).

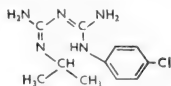
Первым сознательно созданным препаратом-предшественником был гексамин (уротропин, метенамин), введенный в медицинскую практику в 1899 г. Уротропин использовался как источник формальдегида, который образовывался из него под действием кислоты в мочевых путях. Однако большинство таких препаратов-предшественников было открыто случайно. Производные антраценгликозидов применялись как слабительные на протяжении веков (в естественной форме — крушина, каспия, ревень) и только недавно выяснилось, что это не истинные лекарства, а «предлекарства»; активными являются их агликоны (например, эмодин) [1384].

Возникшее давно предположение о том, что обезболивающее действие кодеина частично связано с деметилированием его в морфин, в настоящее время подтвердилось [15]. Установлено, что хлоралгидрат, фенацетин и ацетанилид также являются препаратами-предшественниками. Хлоралгидрат (2.13) оказывает снотворное действие только после его восстановления в трихлорэтанол (2.14) [273]; ацетанилид (2.15) и фенацетин (2.16) приобретают активность только после превращения в *n*-ацетаминофенол (2.17), который применяют в настоящее время как самостоятельное лекарственное сред-

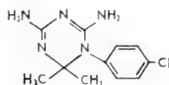


ство под названием парацетамола. *n*-Ацетидамофенол в отличие от ацетанилида не вызывает образования метгемоглобина.

Если между средней концентрацией лекарственного препарата в плазме и его терапевтической активностью отсутствует корреляция, то можно предположить, что в данном случае мы имеем дело с «предлекарством». Так было установлено, что противомаларийное средство прогуанил (палудрин; хлорогуанид) (2.18) приобретает активность только после того, как в организме произойдет его циклизация с образованием соответствующего дигидротриазина (2.19) [370]. Прогуанил не оказывает почти никакого действия на культуру малярийных плазмодиев *in vitro*, тогда как соединение (2.19) в этих условиях высокоактивно.

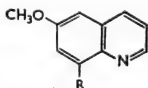


Прогуанил  
(2.18)



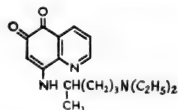
(2.19)

Аналогичными методами было обнаружено, что гаметоцидное противомаларийное средство, которое представляет собой производное 8-амино-6-метоксихинолина (2.20), действует только после того, как в организме произойдет его окисление и деметилирование с образованием соответствующего 5,6-хинона. Так, например, из памахина (2.20) получается соединение (2.21), обладающее в 16 раз большей противомаларийной активностью, чем памахин [784, 1341]. Даже 8-аминохинолин-5,6-хинон служит очень эффективным противомаларийным средством [788]. Следует отметить, что повышение активности памахина за счет окисления его до 5,6-хинона было предсказано Шенхофером [1278].



Памохин:  $R = \text{NH CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$   
Примохин:  $R = \text{NH CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$

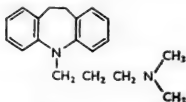
(2.20)



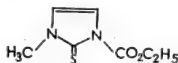
(2.21)

Лейкантон, используемый для лечения шистосоматоза, активируется в результате окисления (в организме) его метильной группы в оксиметильную.

Еще одним примером такого рода может служить психофармакологический препарат имипрамин, или тофранил (2.22) (N-8-диметиламинопропил-дибензазепин); совсем недавно стало известно, что в организме этот антидепрессант теряет одну метильную группу (у атома азота в конце боковой цепи) [1392]. Образующееся в результате соединение, дезипрамин (пертофран), в клинике дает лучшие результаты и не оказывает побочного действия, свойственного имипрамину.



Имипрамин  
(2.22)



Карбимазол  
(2.23)

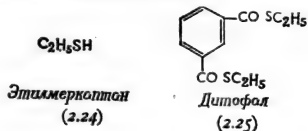


Касторовое масло, действующим началом которого служит рицинолевая кислота, и цитрат натрия, который частично превращается в организме в бикарбонат натрия и тем самым определяет щелочную реакцию мочи, также можно отнести к таким проагентам. Иногда в обычно применяемых лекарственных препаратах намеренно «маскируют» активную группу, превращая их таким образом в физиологически инертные предшественники, с тем чтобы создать в организме депо, из которого будет постепенно высвобождаться истинное лекарственное вещество. Такая необходимость возникает только в тех случаях, когда эффективное использование препарата затруднено из-за того, что он слишком быстро разлагается в процессе метаболизма или выделяется из организма. Гормоны, например, часто применяют в такой «маскированной» форме для обеспечения их постоянного уровня в организме. Далее, метимазол (мерказол или 2-меркапто-1-метилимидазол), активное средство для лечения тиреотоксикозов, обычно применяют в виде его 3-этоксикарбонилпроизводного (2.23) (карбимазола, неомерказола), которое создает депо.

Сукцинилсульфатазол, обычно применяемый при бактериальной дизентерии, отличается от сульфатазола тем, что очень плохо всасывается в тонком кишечнике, благодаря чему создается высокая его концентрация в толстом кишечнике. Антибактериальной активностью *in vitro* сукцинилсульфатазол не обладает, однако в толстом кишечнике он гидролизруется сапрофитами с образованием сульфатазола, который быстро стерилизует кишечник. Производное триазина (2.19) было заново введено в практику в виде нерастворимой соли, памоата, под названием циклогуанил (камолар). Применяется этот препарат в качестве противомаларийного средства, создающего в организме депо. Утверждают, что однократного внутримышечного введения этого вещества достаточно для того, чтобы обеспечить защиту от малярии на несколько месяцев [478, 1531].

Помимо приведенных выше примеров маскировки или создания латентных депо, следует упомянуть о высокоэффективных фосфорорганических инсектицидах, которые в организме насекомых превращаются в более токсичные, а в организме хозяина — в менее токсичные соединения (гл. 10, разд. 3). Примером того, как можно остроумно использовать прием маскировки для решения проблемы доставки лекарственного вещества к месту действия, может служить использование 2',3',5'-триацетильного производного 6-азауридина (жирорастворимое вещество) для пероральной терапии опухолей. В то время как истинный лекарственный агент, 6-азауридин, в кишечнике не всасывается, его триацетильное производное, напротив, всасывается хорошо и затем уже деацетилируется [1513].

Сходным образом, 5-окситриптофан (подобно большинству аминокислот вообще, как природных, так и синтетических) проникает через гемато-энцефалический барьер, функционирующий по третьему типу (разд. 2 настоящей главы), а затем декарбоксилируется с образованием 5-окситриптамина (серотонина), который иначе, непосредственно, в мозг попасть не может. Подобный метод широко используется в экспериментах на животных в тех случаях, когда нужно воздействовать на мозг различными аминами. При лечении проказы этилмеркаптаном (2.24), имеющим низкую температуру кипения, его применяют в виде менее летучего производного — дитофала (2.25) (диэтилдитиолизофталат, этисул), который втирают в кожу. В организме дитофал разлагается с образованием этилмеркаптана.



Этот остроумный прием позволяет не только устранить трудности, связанные с летучестью меркаптана, но и дает возможность избавиться от его запаха. Меркаптаны безвредны, но имеют отвратительный запах. Более подробно о чрезвычайно успешном применении дитофала для лечения прокавы в Африке см. в работе [404].

Используют в настоящее время и такой прием, как преднамеренное введение в молекулу лекарственного вещества заместителей, которые за счет электронного эффекта вызывают временную инактивацию токсической группы, расположенной в некотором отдалении от них. Если структура молекулы лекарственного вещества такова, что введенные в ее состав заместители могут вызывать мезомерный эффект, то токсическая группа может отстоять от них еще дальше. В приложении 3 приводятся ожидаемые изменения электронной плотности в молекулах при введении тех или иных заместителей. Таким способом, в частности, пытаются дезактивировать атомы хлора в алкилирующих азотистых янтриах, применяемых в качестве противораковых средств с тем, чтобы дезактивирующие группы высвобождались только в опухолевых клетках (гл. 10, разд. 4).

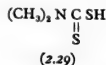
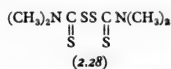
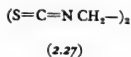
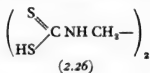
Предпринимались многочисленные попытки использовать прием маскировки с целью получить лекарственные вещества пролонгированного действия, однако из полученных препаратов лишь немногие выдержали испытание временем. Делу в организме удается создать в основном с помощью других приемов, например с помощью имплантации таблеток, инъекций масляных суспензий или внутримышечного введения лекарственного вещества. Практикующие врачи в большинстве случаев предпочитают иметь дело с истинными лекарственными веществами, так как это дает возможность непосредственно контролировать их дозировку.

Ниже речь пойдет о некоторых *используемых в сельском хозяйстве фунгицидах и инсектицидах*, которые только в результате расщепления превращаются в активные соединения.

Этилен-бис-дитиокарбаминавая кислота (2.26) и ее соли (набам, дитан) широко применяются в качестве фунгицидов в сельском хозяйстве, особенно для борьбы с болезнями томатов и картофеля. Эти соединения разлагаются с образованием соответствующих изотиоцианатов (2.27), которые затем соединяются с жизненно важными сульфгидрильными группами [1324].

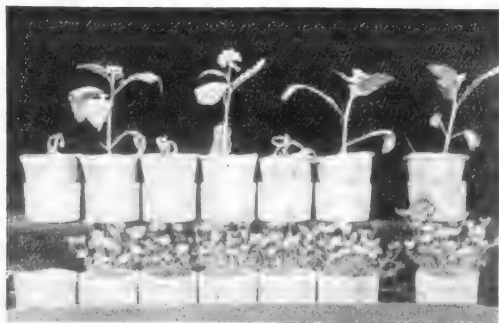
Вслед за этим были выпущены другие весьма многочисленные предшественники изотиоцианатов, хотя до настоящего времени нет уверенности в том, что механизм действия набам именно таков.

Тетраметилтиурамдисульфид (2.28), применяемый для остановки роста грибов на семенах и травах, по-видимому, превращается в активное соединение лишь в результате восстановления в диметилдитиокарбаминавовую кислоту (2.29) — широко распространенное фунгицидное средство с хелатообразующим действием (гл. 9, разд. 7, в).



Для химиотерапевтической защиты растений от грибов применяют циклогексимид (гл. 1, разд. 4, б) в виде семикарбазона, который в клетках гриба превращается в токсичный кетон, тогда как в растениях безвредный для них семикарбазон не изменяется [638].

Что касается использования такого приема, как маскировка, применительно к гербицидам в целях повышения избирательности их действия, то удалось установить, что в клетках многих сорняков боковые цепи нетоксичных  $\omega$ -2,4-дихлорфеноксипроизводных алифатических кислот разрушаются и образуется токсичная для них 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота. К счастью, оказалось, что у многих полезных злаков фермент ( $\beta$ -оксидаза алифатических кислот), ответственный за это летальное для сорняка превращение, отсутствует [1481]. Используя далее этот принцип, удалось получить



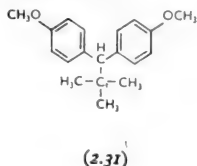
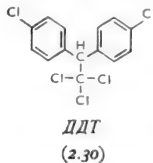
У П М В К Э

Фиг. 20. Селективное действие гербицидов.

Результат опрыскивания дикой горчицы (верхний ряд) и клевера (нижний ряд) 0,2%-ным раствором  $\omega$ -(2,4-дихлорфенокси)уксусной: (У), пропionicной (П), масляной (М), валериановой (В), капроновой (К) и энантовой (Э) кислот. Справа — контроль. Фотографировано через две недели после опрыскивания [1481].

вещества, обладающие замечательно высокой избирательностью, — дихлорфеноксимасляную и дихлорфеноксикапроновую кислоты (фиг. 20). Эти соединения, в частности, очищают посевы клевера от льна, который выступает здесь как сорняк. Основой для создания таких гербицидов послужили следующие наблюдения: было замечено, что в гомологическом ряду из семи исследованных  $\omega$ -2, 4-дихлорфеноксиалкилкарбоновых кислот способность влиять на рост растений изменяется при переходе от низших членов ряда к высшим; при этом активность обнаруживают только соединения, содержащие нечетное число метиленовых групп в молекуле, что наводило на мысль о  $\beta$ -окислении (впервые обнаруженном Кнопом в 1904 г.) [1398].

Для того чтобы придать ДДТ (2.30) избирательность в отношении питающихся целлюлозой насекомых-вредителей растений, гранулы ДДТ покрывают гемилцеллюлозой. Раньше полагали, что ДДТ является предшественником, который далее разлагается с образованием хлористого водорода и нетоксичного дихлордифенилхлорэтилена [973].



Казалось, впрочем, маловероятным, что сильные судороги, характерные для действия ДДТ, может вызывать то небольшое количество хлористого водорода, которое образуется в тканях с их, надо полагать, надежно забуференной средой. Заключение о том, что хлористый водород должен выделяться лишь в небольших количествах, следовало из того, что для уничтожения мух достаточно  $10^{-12}$  г ДДТ на площади  $1 \text{ см}^2$ . Позднее, однако, было обнаружено, что не содержащие хлора аналоги ДДТ, например (2.31), также обладают типичной для ДДТ активностью [240]. А после того как стало известно, что механизм развития устойчивости к ДДТ у мух состоит в том, что они приобретают способность расщеплять ДДТ на хлористый водород и дихлордифенилдихлорэтилен [1561], ДДТ перестали считать протоксическим агентом.

**Заключение.** Многочисленные данные свидетельствуют о том, что большинство токсических агентов, тем или иным способом введенных в организм, вступает во взаимодействие с рецепторами в неизмененном виде. Опытный исследователь, используя в помощь себе все, что известно о явлениях проницаемости и о ферментах, может также изыскивать достаточно эффективные предшественники лекарственных веществ, но при этом никогда не следует забывать, что нормальной реакцией всякого организма на введение чужеродного вещества является попросту разрушение (сжигание) этого вещества. Вообще говоря, наиболее устойчивым к действию этих разрушительных процессов оказалось гетероциклическое кольцо. Поэтому гетероциклические соединения все чаще используются как основа для создания новых токсических агентов.

Те изменения, которые обычно претерпевают чужеродные вещества в клетке, часто называют *механизмами детоксикации* [1545]. Иногда, однако, в результате этих превращений образуются соединения более токсичные, нежели исходные. Так, токсическое действие метанола связано с превращением его в формальдегид [825].

## 5. Обратимость взаимодействия с рецепторами

Значительное большинство токсических агентов, по-видимому, очень прочно связывается с рецепторами, так как их можно просто отмыть. После промывания признаки, характеризующие присутствие токсических агентов на рецепторе, более не обнаруживаются. Ковалентные (гл. 5, разд. 1, д) связи с рецепторами токсические вещества образуют в сравнительно редких случаях, но, коль скоро это произошло, возникшее изменение оказывается обычно необратимым.

Эрлих высказал предположение, что токсическое действие арсеноксидов на трипаносомы обусловлено связыванием (согласно современным представлениям, это ковалентное связывание) с жизненно важными SH-группами в тканях паразитов [463]. Эта гипотеза была позднее подтверждена Фегглином [1465]. Однако Эрлиху было известно и то, что в связывании токсических веществ играют роль, помимо ковалентных, и другие, более лабильные связи. Он писал: «Если в организм животного ввести алкалоиды, ароматические амины, жаропонижающие средства или анилиновые красители, то все эти вещества можно легко удалить из тканей с помощью воды, спирта или ацетона» [462].

Специалист в области химиотерапии, воспитанный на примерах действия пенициллина и препаратов мышьяка, может представлять себе дело таким образом, что в основе действия токсических агентов лежит образование ковалентных связей. Но те, кто работает в области фармакодинамики и привычны к многократно повторяющимся операциям промывки органов (фиг. 21), лучше ориентируются в этих вопросах.

Препараты, токсическое действие которых связано с их способностью образовывать ковалентные связи, очень немногочисленны. К ним относятся

главным образом препараты мышьяка, ртути и сурьмы, механизм действия которых состоит во взаимодействии с сульфгидрильными группами паразита; пенициллин, алкилирующие азотистые пирилы и фосфорсодержащие антихолинэстеразные препараты (все они либо ацилируют, либо алкилируют соответствующие рецепторы); и, наконец, группа соединений, токсическое действие которых связано с их способностью встраиваться в молекулы нуклеиновых и фолиевых кислот, — например 8-азагуанин и *п*-аминосалициловая кислота.

Эти токсические соединения, способные к образованию ковалентных связей, подробно рассматриваются в гл. 10. Несомненно, появятся новые вещества подобного же действия, однако большинство известных в настоящее

Фиг. 21. Удаление лекарственных веществ с рецепторов посредством отмывания.

Этот пример иллюстрирует результаты опытов с гистамином. Опыт проводился следующим образом: кишечник морской свинки погружали попеременно то в испытуемый раствор, то в стандартный (объемы обоих растворов доведены до 2 мл с помощью физиологического раствора).

Обозначения:  
С — стандартный раствор (1 : 5 000 000); а — 0,1 мл; б — 0,07 мл; в — 0,09 мл; И — испытуемый раствор. После каждого определения ткань промывали физиологическим раствором, возвращая ее таким образом в исходное состояние. (Результаты опыта: 0,1 мл испытуемого раствора соответствовала 0,09 мл стандартного раствора.)



время лекарственных веществ взаимодействует с рецепторами за счет более лабильных, легко разрушающихся связей — ионных и водородных, а также вандерваальсовых (гл. 5, разд. 1), тогда как взаимодействие с рецепторами, сопровождающееся образованием ковалентных связей, — явление весьма редкое.

Хотя ковалентные связи достаточно прочны, более слабые из них могут в определенных условиях разрываться с образованием новых ковалентных связей. Так, при действии мышьяксодержащих препаратов происходит связывание жизненно важных сульфгидрильных групп и отравление клетки, однако сульфгидрильные группы пораженной клетки можно регенерировать (1465), если ввести избыток антидота (например, тиогликолевой кислоты), содержащего реакционноспособные SH-группы. Для разрушения более прочных — As — S-связей в клетке был создан и более эффективный димеркапто-препарат — димеркапрол [1135]. Аналогичным образом, если повреждение тканей является результатом взаимодействия какого-то фосфорорганического соединения с жизненно важными ферментами (гл. 10, разд. 3), то с помощью органических производных гидроксилamina удается разрушить все связи токсического вещества с тканью, кроме самых прочных. При этом вместо атома кислорода ферментов фосфорилированию подвергаются гидроксильные группы антидота [312, 1555].

Вполне вероятно, что большинство ковалентных связей между рецепторами и лекарственными веществами настолько прочны, что не разрушаются даже в результате этих обменных процессов.

## 6. Количественные аспекты распределения

Состояние равновесия, которое устанавливается при прохождении лекарственных веществ через мембраны, играет важную роль в регулировании доставки этих веществ к рецепторам даже в тех, достаточно редких, случаях, когда последующие их взаимодействие с рецепторами приводит к образованию ковалентных связей. На фиг. 22 схематически изображен один из подобных процессов. А на основании того, что было уже сказано по этому поводу, можно представить себе, как обстоит дело в других случаях. Каждая пара

констант (вычисленных для прямого и обратного процессов) (фиг. 22) может быть заменена одной результирующей константой.

В последние годы большое внимание уделялось вопросам кинетики процессов всасывания, распределения, обмена и выведения лекарственных веществ (см. обзор [1041]<sup>1</sup>). Даже для очень близких по своей структуре соединений наблюдаются количественные различия на каждой стадии процесса, изображенного на фиг. 22. Избирательное действие лекарственных

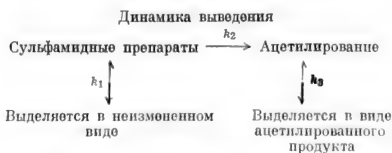


Фиг. 22. Количественные аспекты распределения.

$K_c$  — константа, характеризующая связь с носителем;  $K_m$  — константа диффузии;  $K_x$  — константа, характеризующая связь с рецептором.

веществ в очень большой степени определяется этими различиями. Таким образом, судьба каждого лекарственного препарата в организме описывается суммой констант, значения которых определяются особенностями химической структуры этих соединений (для разных видов эти константы различны).

В настоящее время для установления адекватной схемы дозирования часто определяют период полужизни лекарственных веществ. Две группы исследователей (группа Крюгера-Тимера из Бад-Ольдеслоэ, близ Гамбурга, и группа покойного Нельсона из Буффало) заложили основы этих количественных исследований. После того как было установлено, что введение лекарственных препаратов через интервалы, соответствующие периоду их полураспада, дает максимальный эффект, стали определять необходимую начальную и под-держивающую дозы, что не всегда удается установить в эксперименте.



Фиг. 23. Динамика метаболических превращений сульфамидных препаратов в организме человека.

Лекарственный препарат (например, сульфизоксазол или сульфаметил-тиадиазол) вводили перорально здоровым людям (добровольцам) и через небольшие промежутки времени брали у них пробы крови и мочи для анализа. Таким способом были определены константы скоростей всасывания и выделения для различных сульфамидных препаратов. Константы скорости выделения обозначают следующим образом:  $k_1$  — для выделения измененного в почках лекарственного вещества;  $k_2$  — для ацетилирования лекарст-

<sup>1</sup> Обзор на эту же тему вышел также на русском языке (В. А. Филлов. В сб.: «Итоги науки, фармакология, токсикология (проблемы токсикологии)», 1965, ВИНТИ АН СССР. М., 1967, 45—92.— *Прим. ред.*

венного вещества в организме;  $k_3$  — для выделения ацелированного продукта (фиг. 23). Сложная константа  $k_1$  может быть представлена в виде суммы трех констант, каждая из которых характеризует депонирование вещества за счет связывания с сывороточным альбумином, выведение его почечными клубочками и реабсорбцию в канальцах. Большей частью эти процессы представляют собой реакции первого порядка, т. е. на каждой из последовательных стадий скорость их *прямо* пропорциональна концентрации, но существуют и такие, которые являются реакциями нулевого порядка, т. е. их скорость не зависит от концентрации [1042, 1043]. Скорость выведения определяют, сопоставляя содержание лекарственного вещества в крови (в свободном виде) и моче (общее содержание). На основе этих данных можно получить константу скорости выведения и вычислить из нее период полужизни лекарственного вещества.

Такого рода исследования дают возможность избежать нередких при назначении лекарств ошибок: применения недостаточной дозы (которая не дает эффекта) и передозировки (которая приносит вред больному).

Эти исследования представляют особый интерес в связи с проблемой избирательности, так как позволяют выявить, что действие лекарственных препаратов характеризуется разнообразными, подчас самыми неожиданными независимыми параметрами. Отсюда следует, что характер распределения лекарственных веществ можно изменять, внося даже незначительные изменения в их структуру. Все эти данные и соображения открывают перед исследователями новые возможности для повышения избирательности действия лекарственных препаратов путем регуляции распределения.

Скорость выведения ( $-dC/dt$ ) любого лекарственного вещества равняется  $KC$ , где  $K$  — константа скорости выведения, а  $C$  — концентрация (например, в плазме) в данный момент.  $K$  — представляет собой результирующую константу скорости отдельных процессов, таких, как выделение с мочой и деструкция в процессе метаболизма. Интегрирование дает:  $C = C_0 \exp(-Kt)$ , где  $C_0$  — концентрация в момент, когда  $t = 0$ . Отсюда выводим значение  $t_{0,5}$  (биологический период полужизни лекарственного вещества); оно равно  $0,693/K$ , если расчет проводился с помощью натуральных логарифмов, и  $0,301/K$ , если использовались десятичные логарифмы.

Проводить эти расчеты не имеет смысла в тех случаях, когда лекарственное вещество назначается *однократно* или действие его сопровождается значительными побочными эффектами.

Равновесие при распределении лекарственного вещества между плазмой крови и тканями устанавливается быстро, тогда как всасывание твердых лекарственных препаратов, введенных внутрь, происходит медленно и процесс этот является экспоненциальным. Скорость всасывания пропорциональна величине всасывающей поверхности и зависит, кроме того, от лекарственной формы. В ряду: растворы, суспензии, капсулы прессованные таблетки, таблетки с покрытием, — скорость всасывания убывает. Натриевые соли слаборастворимых кислот создают в крови более высокую концентрацию, чем сами кислоты, так как в результате взаимодействия с соляной кислотой в желудке соответствующие слабые кислоты выделяются из этих солей в значительно более дисперсной форме, чем та, в которой выпускаются самые лучшие из имеющихся в продаже препаратов. Имеется обзор [1477] по кинетике растворения лекарственных соединений. Вопросы, связанные с выделением лекарственных веществ из имплантированных таблеток, освещены в обзоре [102] и в настоящее время уже хорошо изучены.

С помощью более совершенных методов дозирования, основанных на данных кинетических исследований, можно получать более быстрый эффект и избежать опасностей (в виде побочных эффектов), связанных с передозировкой [857]. Теперь, когда разработаны основные принципы и проведены необходимые расчеты, можно ожидать быстрого прогресса в этой области.

# Химиотерапия; история и основные принципы

## Введение и исторический обзор

Термин *химиотерапия* был предложен Паулем Эрлихом и, по мысли его, означал *использование таких лекарственных веществ, которые поражают бы паразитов, не причиняя вреда организму-хозяину*. Сущность химиотерапии, таким образом, заключается в достижении дифференцированного эффекта от введения лекарственного вещества, так чтобы обеспечить организму-хозяину некоторые преимущества в борьбе с паразитом. Основную роль в этой борьбе играют лейкоциты хозяина и другие естественные защитные силы организма, однако эффективное лекарственное средство может сдвинуть равновесие в пользу хозяина. В настоящей книге понятие «химиотерапия» используется автором в том самом смысле, какой придавал ему Эрлих.

Химиотерапия — первая из сфер применения принципа избирательной токсичности, в которой механизм действия изучался методами, принятыми в физике. Развитию этих исследований сильно способствовало то обстоятельство, что в данном случае полезный и вредный виды структур (гл. 1) не составляют одного целого — это разные организмы (организм-хозяин, с одной стороны, и паразит — с другой); поэтому, в частности, возможно исследовать (и даже культивировать) паразита вне организма-хозяина. Вот почему основные принципы в области химиотерапии были сформулированы значительно раньше, чем в области фармакодинамики (гл. 4). Настоящая глава посвящена знакомству с этими принципами и с теми историческими предпосылками, которые привели к их созданию.

До Эрлиха было известно лишь очень небольшое число химиотерапевтических средств — хинная кора для лечения малярии, ипекакуана для лечения амебной дизентерии и ртуть, которую применяли при сифилисе. Ртуть начали использовать для этой цели в XVI в., ипекакуана же и кора хинного дерева вошли в употребление в XVII в. Сантония и мужской папоротник еще в древности находили применение в качестве противоглистных средств. В XVII в. тосканец Франческо Реди занимался поисками антигельминтных средств, испытывая для этой цели действие различных веществ на земляных червей [1180].

В 1891 г. Д. Л. Романовским в Петербурге было сделано выдающееся открытие. Применяя для микроскопического исследования препаратов окрашивание с помощью эозина и метиленового синего, он обнаружил, что у больных, получавших хинин, малярийные плазмодии оказывались поврежденными. Наибольший эффект отмечался для бесполой внутриклеточных форм, ядра которых быстро распадались. Уже через 2 дня никаких паразитов в крови больных обнаружить не удавалось. Результаты этих опытов позволили Романовскому утверждать, что излечение малярии произошло за счет того, что хинин вредит паразиту больше, нежели хозяину. Этот вывод имел большое историческое значение, так как до того никто даже не предполагал, что лекарственное вещество может действовать подобным образом (возбудитель малярии был открыт Лавраном в 1880 г.). Романовский высказал уверенность в том, что со временем будут найдены специфически действующие вещества для борьбы и с другими заболеваниями. И это будут соединения, способные в максимальной степени повреждать паразитов и наносить минималь-



ный вред тканям хозяина [1223]. Эта идея так мало соответствовала уровню развития науки того времени, что в дальнейшем она совершенно не разрабатывалась до тех пор, пока открытие Романовского не было повторено Эрлихом.

## 1. Вклад Эрлиха в химиотерапию

Начало интенсивной работы Эрлиха в области химиотерапии принято датировать 1899 г. В этом году он был назначен директором Института экспериментальной терапии во Франкфурте. Ему тогда было 45 лет. На заводах Хехста во Франкфурте Эрлих близко познакомился с промышленным органическим синтезом в Германии, с производством множества синтетических обезболивающих, жаропонижающих и анестезирующих средств (гл. 4, разд. 1). Если оказалось возможным синтезировать простые вещества, по-разному действующие на разные клетки в организме человека, то, по мысли Эрлиха, логично было предположить, что возможен также синтез каких-то других низкомолекулярных соединений, обладающих способностью по-разному относиться к клеткам человека и клеткам его паразитов. Эрлих всегда подчеркивал различие, существующее между иммунотерапией (т. е. терапией с помощью вакцин и сывороток) и химиотерапией. Он понимал, что иммунотерапия укрепляет защитные силы организма, химиотерапию же рассматривал как метод непосредственного воздействия на паразита. Задача заключалась в том, чтобы отыскать соединения, обладающие значительно большим средством по отношению к паразитам, чем к тканям хозяина.

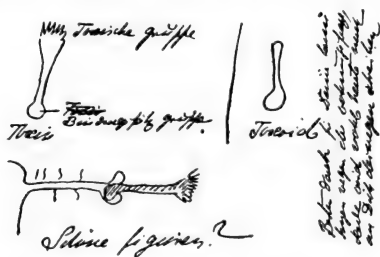
В течение предшествовавшего двадцатилетия своей жизни Эрлих много занимался изучением избирательного средства тканей к различным химическим соединениям. Сначала он исследовал распределение свинца между различными тканями млекопитающих, затем распределение красителей. Как результат этих исследований появились его выдающиеся работы по гистологическому окрашиванию (метод дифференциальной окраски лейкоцитов, предложенный Эрлихом, применяется до сих пор). Работа с красителями привела его также к открытию различий в средстве разных тканей к кислороду. Эрлих предложил классификацию тканей по их способности восстанавливать красители с различным окислительно-восстановительным потенциалом (метиленовый синий, индофенол, ализариновый синий).

Вслед за тем внимание Эрлиха привлекла необычно высокая избирательность антител по отношению к соответствующему антигену. Именно в это время он разработал большинство своих иммунологических методов, сохранивших свое значение и в наши дни. Интересно вспомнить предложенную



Фиг. 24. П. Эрлих (1854—1915) и его сотрудник С. Хата (1873—1938).

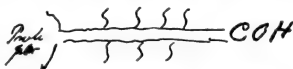
Эрлихом интерпретацию иммунологического процесса (фиг. 25): антиген<sup>1</sup> имеет две отличные друг от друга группы или области — гаптофор и токсофил. По Эрлиху, клетки млекопитающих имеют «боковые цепи», содержащие



Фиг. 25. Эрлиховское объяснение иммунологического процесса, факсимиле (из письма Эрлиха Карлу Вейгерту), 1898, в котором впервые приводится наглядное изображение его теории боковых цепей) [675].

рецепторы, которые представляют собой группы или участки, комплементарные гаптофорам и потому захватывающие, фиксирующие их подобно своего рода якорю. Эта система сама по себе не вредоносна, но в результате такого соединения токсофильная группа сближается с клеткой и может отравить ее. Эрлих считал, что нормальная функция рецепторов заключается в фиксации молекул питательных веществ.

Именно эти положения своей иммунологической гипотезы Эрлих использовал для объяснения механизма действия химиотерапевтических средств



Фиг. 26. Эрлиховское объяснение принципов химиотерапии (факсимиле).

Предполагается, что молекула вещества, играющего важную роль в метаболических реакциях клетки, содержит альдегидную группу, которая в норме присоединяет к себе промежуточные продукты обмена веществ. Нижняя часть рисунка описывает ситуацию, когда молекула теряет эту способность из-за того, что ее альдегидная группа блокируется в результате взаимодействия с воображаемым лекарственным веществом, содержащим аминогруппы [684].

(фиг. 26). Эрлих предположил, что они содержат обособленные гаптофорные и токсофильные группы — справедливость этого он позднее подтвердил на примере мышьяк содержащих препаратов (гл. 3, разд. 1) — и блокируют клеточные рецепторы, нормальной функцией которых является участие в питании или дыхании клетки.

Интересно рассмотреть некоторые понятия и символы, введенные Эрлихом для иллюстрации его иммунологических (фиг. 25) и химиотерапевтических (фиг. 26) представлений. Эрлих говорит о шпальцах и сосочках, которые символизируют некие макромолекулярные структуры, нечто вроде «складок», характерных для белковых молекул. Что касается понятий его химиотерапевтической теории, то они, напротив, носят четкий химический характер. В частности, он пишет об альдегидной группе (гипотетической), которая входит в состав молекул клетки и взаимодействует с аминогруппами лекарст-

<sup>1</sup> Антиген — чужеродный белок (например, бактериальный), при попадании которого в организм млекопитающего определенные клетки начинают более или менее интенсивно вырабатывать молекулы комплементарного белка — антитела; антитела поступают в кровь и специфически соединяются с данным антигеном (и ни с каким другим) с образованием безвредного продукта.

венных веществ. Эрлих считал несомненным, что между клетками и лекарственными веществами происходят обычные химические реакции. В своей основе эта точка зрения совпадает с современными представлениями, хотя слова «обычные химические реакции» в современном понимании приобретают более широкий смысл, охватывая значительно большее разнообразие связей, чем во времена Эрлиха (гл. 5).

Отличающаяся необыкновенной оригинальностью концепция Эрлиха о существовании химически активных групп в молекулах лекарственных веществ и специфичных для них химически активных рецепторов в клетках явилась значительным шагом вперед в развитии биологических наук. Его тезис, согласно которому наиболее эффективными лекарственными средствами должны служить вещества с низким молекулярным весом, получил веское подтверждение. В табл. 8 приведены некоторые типичные лекарственные вещества, находящие применение в современной химиотерапии. Легко убедиться в том, что молекулярный вес этих соединений находится в пределах от 170 до 1400, причем сравнительно высокомолекулярные лекарственные препараты крайне редки (1400 — это необычно высокое значение). В то же время  $\gamma$ -глобулин — белок антител — имеет молекулярный вес 200 000.

Таблица 8

**Типичные химиотерапевтические агенты с характерной для них несложной структурой**

Вещество	Число атомов в молекуле	Мол. вес
Сульфаниламид	19	172
Сульфадиазин	27	250
Пенициллин	41	356
Тетрациклин	56	408
Хлорамфеникол	32	323
Стрептомицин	79	582
Изониазид	17	137
Аминакрип	25	194
Оксин	18	145
Оксифенарсин (мафарсид)	16	199
Эметин	75	480
Хинин	48	325
Хлорохин	48	320
Пириметамин (дараприм)	30	249
Пентамидин	49	332
Хинапирамин (антрицид)	44	296
Сурамин (Байер-205)	126	1 429
Для сравнения:		
Глюкоза	24	180
$\gamma$ -Глобулин	30 000	200 000

В 1902 г. Лаверан и Мениль ввели мышьяк мышам, зараженным трипаносомами. Мышьяк уничтожил трипаносом, но вместе с ними погибли и мыши. В то время даже и это было расценено как большой успех. В 1904 г. Эрлих добился излечения мышей, зараженных трипаносомами, применив для этого трипановый красный, который стал таким образом первым химиотерапевтическим препаратом, созданным руками человека. Это событие вызвало живейший интерес, но, к сожалению, на людях трипановый красный оказался неэффективным. В 1906 г. для Эрлиха во Франкфурте был создан институт (Georg Spreyer Haus), так что он получал возможность посвятить себя целиком химиотерапии. Тем временем в Ливерпуле Брейл и Томас обнаружили, что препарат мышьяка атоксил оказывает благоприятное терапевтическое действие при трипаномозе у людей. Это открытие повлияло на решение Эрлиха

начать систематические исследования мышьяксодержащих ароматических соединений.

Эрлиху удалось обнаружить только одно лекарственное вещество, сразу же получившее применение в клинике. Это был сальварсан (10.4), выпущенный в 1910 г., ровно через 5 лет после того как Шаудинн доказал, что возбудителем сифилиса является *Treponema pallidum*. Потребовалось много лет работы, прежде чем Эрлиху удалось найти для этого лекарственного вещества правильную дозировку. Вначале он надеялся добиться излечения с помощью одной ударной дозы, однако опыт показал, что сальварсан обладает слишком высокой токсичностью для человека, и единственным возможным является введение препарата дробными дозами в течение длительного времени (несколько месяцев), при условии, что больной достаточно хорошо их переносит [464, 467].

Эрлих настаивал на необходимости изыскания препаратов, обладающих максимальным паразитотропным и минимальным органотропным действием. Иными словами, эти вещества должны обладать высокой степенью сродства в отношении паразита и малой — в отношении хозяина. Эта концепция легла в основу понятия «химиотерапевтический индекс», которое Эрлих определил как отношение минимальной активной дозы к максимально переносимой дозе. Так, вещество, которое излечивает трипаносомоз у мышей в дозе 2 мг/кг и не обладает летальным действием в дозах ниже 50 мг/кг, будет иметь индекс 1/25. Вещество с индексом, скажем, 1/5 приемлемо в качестве терапевтического средства, однако предпочтение следует отдать веществу с индексом 1/25 как более безопасному. Некоторые исследователи предпочитают пользоваться величинами, обратными химиотерапевтическому индексу, которые представляют собой целые числа. Тогда для примеров, приведенных выше, получаются цифры 5 и 25 соответственно.

Позднее было обнаружено, что более надежных результатов можно добиться, если вместо максимально переносимой дозы применять  $LD_{50}$  (доза, убивающая 50% подопытных животных), а вместо минимальной активной дозы применять  $CD_{50}$  (доза, излечивающая 50% подопытных животных). В дальнейшем в эти методики был введен ряд других усовершенствований. Руководствуясь химиотерапевтическим индексом, легко понять, что новое вещество, если оно в два раза менее токсично для человека, чем предыдущее, будет иметь преимущества перед старым только в том случае, если окажется более чем в два раза активнее. На основе этих принципов за последние тридцать лет химики и биологи создали лекарственные средства, характеризующиеся очень благоприятными значениями химиотерапевтического индекса. Так, токсичность сульфаниламидных препаратов для млекопитающих так мала, что ее даже трудно точно измерить, токсичность пенициллина также ничтожна.

Работа, проделанная Эрлихом и небольшим коллективом его сотрудников в Georg Spreyer Haus, невысоко оценивалась учеными — его современниками. Его темпераментные и колоритные выступления создавали ему не только друзей, но и врагов. Если, к примеру, обратиться к его выступлению в Немецком химическом обществе [463], то обнаруживаешь в нем так много риторики и догматизма, а также утверждений, основанных более на интуиции, нежели на логических соображениях, что это не может не вызвать удивления. Многие из его современников придерживались мнения, что выдвигаемые Эрлихом гипотезы не имеют достаточного экспериментального обоснования.

Главным оппонентом Эрлиха был влиятельный патолог Уленгут, который утверждал, что механизм действия лекарственных веществ заключается вовсе не в прямом их действии на паразита, а в стимуляции естественных защитных сил организма-хозяина. Вынужденный считаться с фактами, которые неопровержимо указывали на то, что лекарственные вещества не вызывают образования антител в крови хозяина, Уленгут все же продолжал при-

держиваться своих взглядов об опосредованном действии лекарственных веществ (правда, уже в менее категоричной форме). Его идеи находили многочисленных последователей вопреки тому, что экспериментальные данные отнюдь их не подтверждали. Даже в 1937 г. еще можно было встретиться в литературе с утверждением, что действие сульфаниламидных препаратов объясняется, по всей видимости, стимулирующей активностью фагоцитов.

Когда стало известно, что атоксил и трипановый красный излечивают трипаносомоз у животных, но не действуют на трипаносомы *in vitro*, Уленгут [1444] использовал этот факт как оружие в своей полемике с Эрлихом. К его аргументации прислушивались, так как опыты с атоксиком и трипановым красным являлись важнейшими в экспериментальном арсенале Эрлиха. Однако в 1909 г. Эрлих показал, что производные трехвалентного мышьяка обладают трипаноцидным действием *in vitro*. Он высказал предположение, что и препараты пятивалентного мышьяка также могли бы быть токсичными для трипаносом, если бы удалось сохранить их живыми в культуре до тех пор, пока они не восстановят препарат. Гипотеза Эрлиха была подтверждена лишь через 15 лет после его смерти. Самому Эрлиху, однако, удалось показать, что соединения пятивалентного мышьяка становятся активными *in vitro*, если их предварительно инкубировать в присутствии животных тканей (например, печени). Таким образом, Эрлиху удалось объяснить активность этих соединений *in vivo*.

Гипотеза Эрлиха, согласно которой в основе механизма активности лекарственных веществ лежат химические взаимодействия, получила серьезное обоснование после того, как в его лабораториях были открыты явления устойчивости к лекарственным веществам (подробнее об этом явлении см. в разд. 5 настоящей главы). Эрлих обнаружил, что трипаносомы, устойчивые к действию трипанового красного, не абсорбируют его, тогда как чувствительные к нему трипаносомы окрашиваются этим красителем в красный цвет. Это могло означать, что паразиты, приобретающие в результате отбора устойчивость, утратили химическую группировку, за счет которой осуществляется взаимодействие с красителем. Позднее Эрлих обнаружил два штамма трипаносом, устойчивых к разным ароматическим соединениям мышьяка. Для этих штаммов явлений перекрестной резистентности отмечено не было (см. также разд. 5). Поскольку трипаносом, устойчивых к действию неорганических производных мышьяка ( $\text{HOAs}=\text{O}$ ), обнаружить не удалось, Эрлих предположил, что: 1) устойчивость связана с наличием определенных заместителей в бензольном кольце, 2) что именно эти заместители (например,  $-\text{NH}_2$ -группа) обуславливают способность ароматических производных мышьяка накапливаться в организме паразита и 3) что за гибель паразита ответственна арсеноксидная группировка ( $-\text{As}=\text{O}$ ). Таким образом, именно те соединения мышьяка, которые обладают избирательным действием (а таковыми обладают только *ароматические* производные мышьяка — см. гл. 10, разд. 1), содержат как гаптофорные, так и токсофильные группы. В свете современных представлений «рецепторами» для гаптофоров могут служить молекулы носителей в полупроницаемых мембранах (гл. 2, разд. 2).

## 2. Химиотерапевтические средства, существовавшие до 1935 г.

Открытие в 1935 г. сульфаниламидных препаратов сильно способствовало развитию химиотерапевтических исследований, однако механизмы активности химиотерапевтических средств к этому времени уже были в основном выяснены. В табл. 9 перечислены основные открытия, относящиеся к этому периоду.

Введение в клиническую практику сальварсана в 1910 г. было триумфом не только Эрлиха, но и его коллеги-химика проф. Бертхайма, который для

## Из истории открытия первых химиотерапевтических средств

Год открытия	Лекарственное вещество	При каком заболевании эффективно	Кем введено в практику
—	Кора хинного дерева	Малярия	Завезено в Европу из Южной Америки в XVII в.
—	Ипекакуана	Амебиаз	То же
1904	Трипановый красный	Трипаносомоз <sup>1)</sup> (у мышей)	Эрлих и Шига (синтезировано Вейнбергом)
1905	<i>n</i> -Аминофениларсиновая кислота (атоксил)	Трипаносомоз	Томас и Брейл (синтезировал Бешамп, 1860; структура установлена Эрлихом и Бертхаймом, 1907)
1907—1908	Сурьма (рвотный камень)	Трипаносомоз <sup>1)</sup>	Плиммер и Томпсон (для мышей) и Менсон (для человека)
1910	Арсфенамин (10.4) (сальварсан, Эрлих 606)	Сифилис	Эрлих и Хата (синтез описан Эрлихом и Бертхаймом, 1912); герм. пат. 224, 953, 1909, выдан фирме Хёхст
1911	Оптохин, простое производное хинина	Пневмония <sup>1)</sup> (у мышей)	Моргенрот и Леви
1912	Сурьма (рвотный камень)	Лейшманиоз	Виевна
1912	Трипафлавин (эуфлавин) (3.23)	Трипаносомоз <sup>1)</sup> (у мышей)	Эрлих (синтезировал Бенда)
1912	Эметин	Амебиаз <sup>2)</sup>	Роджерс
1913	Профлавин (1.5) и акрифлавин	Раневой сепсис	Бруунинг
1918	Сурьма (рвотный камень)	Шистосоматоз <sup>2)</sup>	Кристоферсон
1919	Трипарсамид (10.5)	Трипаносомоз	Браун и Пирс (синтезировано Якобсом и Хейдельбергом, 1919)
1920	Сурамин (Байер-205) (8.25)	Трипаносомоз	Рель (синтезировано Хейманом, сообщено в 1924)
1921	Висмут	Сифилис <sup>2)</sup>	Саэрас и Левадити
1926	Памахин (плазмохин)	Малярия	Рель (синтезировано Шульманом и др., сообщено в 1932)
1930	Карбазон	Амебиаз	Лик и др. (синтезировано Эрлихом и Бертхаймом), герм. пат. 213 155, 1907, выдан фирме Хёхст
1932	Мепакрин (атеврин, хинакрин) (8.27)	Малярия	Кикут (биология), Маус и Митч (химия); Фейрли (клинические испытания 1942, сообщено в 1945)
1932	Оксофенарсин (10.3) (мафарсид, мафарсен)	Сифилис	Татум и Кулер (синтезировано Эрлихом и Бертхаймом), герм. пат. 235 391, 1908, выдан фирме Хёхст
1935	Пронтозил (2.8)	Системные бактериальные инфекции	Домагк (синтезировано Митчем и Клэрером), герм. пат. 607 537, 1932
1935	Сульфаниламид (2.9)	Системные бактериальные инфекции	Трефуэль и др. (синтезировано Жельмо, 1908)
1935	Хинуроний (акаприн)	Бабезиеллез <sup>1)</sup> (у скота)	Кикут (синтезировано Шенхофером и Хенекей)

1) Для лечения людей практической ценности почти не представляет.

2) Эти открытия явились результатом обобщения и развития прежних исследований.

достижения их общей цели синтезировал несколько сот органических производных мышьяка. После этого события Эрлих прожил всего пять лет. За это время в его институте было создано два лекарственных вещества, которые оказались очень активными в опытах на мышах. То были: оптохин для лечения пневмонии и триафлавин для лечения сонной болезни. К сожалению, на человеке эти препараты оказались неэффективными. Таким образом, единственным вошедшим в практику лекарственным веществом, созданным Эрлихом, оказался арсенамин (сальварсан) и его растворимое в воде производное неосальварсан. Однако заслуга Эрлиха в области химиотерапии состоит не столько в этих открытиях, сколько в четкой формулировке принципов лечения инфекционных заболеваний с помощью низкомолекулярных химических соединений.

1912—1913 гг. были ознаменованы тремя важными открытиями. Роджерс обнаружил, что активным началом ипекакуаны, применяемой для лечения амебиаза, служит эметин, а Виенна показал значение препаратов сурьмы для лечения лейшманиоза; затем Броунинг, ученик Эрлиха, открыл первые антибактериальные химиотерапевтические средства акрифлавин и профлавин, которые очень близки по структуре к триафлавиному. Эти препараты, производные акридина, нашли широкое применение при обработке ран во время первой мировой войны. В остальном годы войны не были отмечены сколько-нибудь заметными успехами в области химиотерапии. Контролируемое химиотерапевтическое воздействие на возбудителя, находящегося в крови, оставалось неосуществленной мечтой, и широкое распространение получило мнение, согласно которому химиотерапия обещала больше, чем дала и чем, по-видимому, может дать. Однако эти пессимистические выводы оказались слишком успешными.

В 1920 г. были найдены два лекарственных вещества, которые стали затем основными средствами лечения сонной болезни: а) трипарсамид (10.5) — производное пятивалентного мышьяка, близкое по структуре, но менее токсичное, чем оптимистично в свое время названный «атоксил» и б) сурамин (Байер-205) — бесцветный и высокоэффективный аналог трипанового красного. Сурамин (8.25) в дальнейшем применяли в профилактических целях (однократная доза обеспечивает иммунитет на три месяца). Значительным достижением явилось далее создание первых синтетических противомаларийных препаратов, памахина (плазмохина) в 1926 г. и менакрина (8.27) (атебрина) в 1932 г.

Все эти достижения явились результатом дальнейшего развития ключевых открытий, сделанных в свое время Эрлихом и его школой. Так, синтетические противомаларийные средства появились благодаря тому, что ранее Эрлих обнаружил слабое противомаларийное действие метиленового синего [621]. Задержка этих исследований была связана с тем, что не было известно, на каких лабораторных животных можно ставить подобные эксперименты.

С тех пор как Рёлю пришла в голову мысль использовать для этой цели птиц, исследования в этой области стали развиваться быстро. Можно привести множество других примеров задержки в развитии химиотерапевтических исследований, связанной с отставанием в какой-либо из смежных областей биологической науки. Самым неожиданным в это время открытием явилось введение в медицинскую практику двух эффективных препаратов мышьяка: карбазона (для борьбы с амебиазом) и оксофенарсина (10.3) (мафарсид) (для лечения сифилиса). Оба эти вещества были открыты еще Эрлихом и его сотрудниками, которые использовали их в своих экспериментах, однако о применении этих препаратов в клинике в то время и речи быть не могло. И вообще, до тех пор пока Лейдлоу и др. [869] в 1928 г. не разработали метод культивирования энтамеб *in vitro*, возможности экспериментального изучения амебоцидных средств были крайне ограничены.

Не прошло и года после работы Лейдлоу, как Йорки [1594] нашел способ сохранять трипаносомы в пробирке живыми и неизменными в течение 1—2 дней. Эрлих в свое время вынужден был довольствоваться такими условиями опыта, когда еще живые паразиты в контрольных пробирках погибали почти также быстро, как и трипаносомы в пробирках, содержащих испытуемые лекарственные вещества.

Эта новая методика позволяла надеяться на выяснение механизма действия лекарственных веществ на трипаносомы. Всего через два года Йорки смог показать [1595], что в результате обработки раствором препарата трехвалентного мышьяка нормальные трипаносомы быстро погибают, но раствор после этого теряет способность уничтожать новые трипаносомы. В то же время устойчивые к действию мышьяка трипаносомы после обработки раствором препарата трехвалентного мышьяка оставались живыми, а раствор сохранял способность уничтожать чувствительные к мышьяку штаммы трипаносом. Методом титрования трипаносом раствором препарата мышьяка оказалось возможным количественно определять число «хеморецепторов» на поверхности трипаносом. (Эрлих еще раньше показал, что трипаносомы окрашиваются трипановым красным, если они не принадлежат к категории резистентных. К сожалению, трипановый красный не успевает оказать летального действия на трипаносомы за короткий промежуток времени их существования *in vitro*.)

Для окончательного решения вопроса оставалось только к косвенным доказательствам, полученным Йорки, присоединить *прямые*, т. е. показать, что погибшие трипаносомы содержат измеримые количества мышьяка, а устойчивые к действию мышьяковых препаратов трипаносомы его не содержат вовсе. Эти опыты были проделаны Райнером и др. [1184] в 1932 г. Успехи в овладении новыми методиками позволили другим исследователям показать, что абсорбция лекарственных веществ паразитами может происходить в то время, когда они циркулируют в крови хозяина. Так, методом флуоресцентной микроскопии было показано [773], что триафлавин абсорбируется паразитами именно таким образом. Несколько позднее Зингер и Фишль [520, 1333], а также Фишль и др. [520] обнаружили, что с сурьмой, золотом и мышьяком происходит то же самое. Сходные эффекты эти исследователи [520, 1333] наблюдали на спирохетах и плазмодиях.

Очень существенным в этих исследованиях было открытие, что летальному действию лекарственного вещества должно обязательно предшествовать накопление его в организме паразита. Такой механизм действия лекарственных веществ был в свое время предсказан Эрлихом. Одновременно получено подтверждение и другая гипотеза Эрлиха — о взаимодействии между лекарственным веществом и защитными силами организма-хозяина. Эрлих считал, что роль лекарственного вещества состоит только в нарушении метаболизма паразита, после чего в игру вступают естественные защитные силы организма-хозяина, которые и осуществляют уничтожение чужеродного организма. Эти предположения Эрлиха были подтверждены Кричевским [852], который показал, что ретикуло-эндотелиальная система хозяина действительно осуществляет эти функции, так как если ее искусственно повредить, то эффективность лечения химиотерапевтическими средствами значительно снижается.

Открытие совершенно нового явления — терапевтической интерференции — выявило новые особенности терапевтического действия лекарственных веществ [246]. Если мыши, зараженной трипаносомами, ввести небольшую дозу безвредного красителя парафуксина, то трипаносомы окрашиваются в красный цвет и в дальнейшем оказываются устойчивыми к действию сильных трипаноцидных агентов. Создается впечатление, что парафуксин связывается с паразитом таким образом, что физически экранирует рецепторы, с которыми связываются другие химические лекарственные вещества, и даже



рецепторы, отличные от тех, которые обычно связывают парафуксин (см. разд. 6 настоящей главы).

Наличие (по Эрлиху) в молекуле лекарственного вещества обособленных гаптофорных и токофильных участков означает, что только захватывание какого-либо количества инородного вещества еще не обязательно приводит к гибели паразита; видимо, прежде должно произойти дальнейшее присоединение лекарственного вещества (вероятно, за счет других химических групп). Распространенная в настоящее время методика прижизненного окрашивания способствовала тому, что такие представления о механизме повреждающего действия лекарственных веществ стали общепринятыми.

Так же неожиданно, как и все открытия, сделанные в этот период, была обнаружена химическая природа связи между лекарственным веществом и паразитом. Фетглин и его коллеги из Службы здравоохранения США показали, что токсическое действие препаратов мышьяка обусловлено образованием связей  $As-S$  с жизненно важными тиольными (сульфгидрильными) группами паразита (гл. 10, разд. 1). И это было в свое время (в 1909 г) предсказано Эрлихом [463].

Таким образом, к концу этого периода были окончательно разработаны научные основы химиотерапии в полном соответствии с положениями, выдвинутыми ранее Эрлихом. Всеми было признано, что наиболее эффективными химиотерапевтическими средствами служат вещества, обладающие сравнительно невысоким молекулярным весом, что они воздействуют непосредственно на паразита и что их взаимодействие с паразитом представляет собой химический процесс. Эрлиховское положение о присутствии в молекулах лекарственных веществ отличающихся друг от друга гаптофорных и токофильных групп и сейчас нацеливает наше внимание на анализ особенностей структуры лекарственного препарата и той роли, которую может играть каждая деталь структуры в создании конечного эффекта. В настоящее время известно и то, что свойства молекулы зависят также от взаимного электронного влияния ее частей. Руководствуясь хорошо известными химическими закономерностями, можно легко предвидеть, будут ли интересующие нас эффекты суммироваться, или, наоборот, действовать в противоположных направлениях.

### 3. 1935-й и последующие годы

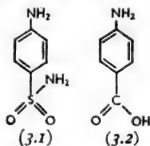
1935 г. является в истории химиотерапии переломным. В этом году Дوماгком был открыт пронтозил, первый из антибактериальных сульфаниламидных препаратов. Это открытие покончило с ложным представлением о том, что химиотерапия—это метод, пригодный для лечения главным образом тропических заболеваний, и знаменовало собой открытие новой эры в медицине и, в частности, в хирургии. В 1940 г. Вудс показал, что сульфаниламидные препараты являются антагонистами *л*-аминобензойной кислоты—вещества, незаменимого для жизнедеятельности бактерий, подтвердив тем самым положение Эрлиха о том, что лекарственные вещества, блокируя рецепторы, затрудняют доступ к ним нормальных питательных веществ (гл. 6, разд. 1).

Более тысячи азокрасителей было испытано на антистрептококковую активность в крови, прежде чем был открыт пронтозил (2.8). При этом вскоре выяснилось, что активность пронтозила определяется вовсе не принадлежностью его к классу азокрасителей. В клинической практике пронтозил впервые был использован в Англии для лечения послеродового сепсиса [335]. Затем, в самом конце 1935 г., Трефуэль и сотр. [1434] (институт Пастера) сделали важнейшее открытие — они обнаружили, что пронтозил, не действующий на бактерии *in vitro*, становится активным в присутствии восстановителя. Постановка этого опыта была подсказана прежними работами Эрлиха по активированию соединений пятиявалентного мышьяка (разд. 1). Позднее им удалось показать, что в организме млекопитающих пронтозил восстанавли-

вается с образованием сульфаниламида (3.1), который оказался при бактерицидии не менее активным, чем прontosил. Вполне вероятно, что если бы не это открытие французских исследователей, то работы по изысканию сульфаниламидных препаратов еще долго проводились бы по методу проб и ошибок. и огромные средства были бы истрачены на поиски новых типов окрашенных сульфамидных соединений.

Дальнейшим шагом были исследования Маршалла (1937 г.), показавшего, что лечебный эффект сульфаниламида пропорционален его концентрации в крови. Оказалось, кроме того, что при данной дозе эффективность препарата варьирует от большого к больному. Так было положено начало методам аналитического контроля содержания лекарственных веществ в крови. Вскоре, правда, выяснилось, что для некоторых веществ (например, мепакрина) эта пропорциональность активности и концентрации в крови не соблюдается.

Механизм действия сульфаниламидных препаратов был в значительной степени выяснен благодаря работам Вудса [1573]. Было показано, что в экстрактах тканей, гное, бактериях и особенно в дрожжевых экстрактах содержится устойчивое к нагреванию низкомолекулярное вещество, обладающее способностью ингибировать действие сульфаниламидных препаратов на бактерии [1361]. Вудс, сопоставив эти факты с известными данными о том, что активность ферментов ингибируется веществами, химически и стерически сходными с их субстратами (гл. 6, разд. 2), выдвинул следующую гипотезу: ингибирующее вещество, найденное в дрожжах, является субстратом фермента, широко распространенного в природе, причем это вещество по своей химической структуре сходно с сульфаниламидом. В экспериментах по фракционированию дрожжевого экстракта Вудс установил, что действующее начало сосредоточено во фракции, растворимой в щелочах, и что активность его тем больше, чем выше интенсивность цветного теста на ароматическую аминогруппу. При этом выяснилось, что активность исчезает после этерификации или ацелирования, восстанавливается в результате последующего гидролиза и вновь исчезает после обработки азотистой кислотой [1573]. Таким образом, Вудсу удалось четко показать, что активное вещество представляет собой ароматическую аминокислоту. Так как наиболее сходной с сульфаниламидом ароматической аминокислотой является *n*-аминобензойная кислота (ПАБ) (3.2), то именно ее Вудс и испытал в качестве возможного ингибитора бактериостатической активности сульфаниламидных препаратов. Он обнаружил при этом, что одна молекула *n*-аминобензойной кислоты может подавить активность от 5000 до 25 000 молекул сульфаниламида.



Вслед затем [1244] удалось выделить из дрожжей *n*-аминобензойную кислоту в виде бензойного производного и доказать, что она служит фактором роста бактерий (*Clostridium acetobutylicum*), жизненно важным для этих бактерий так же, как витамины для человеческого организма. Это произошло в 1940 г.; с тех пор было доказано, что *n*-аминобензойная кислота является незаменимой для многих семейств и родов микроорганизмов, в том числе и для малярийных плазмодиев; некоторые микроорганизмы не нуждаются во внешних источниках *n*-аминобензойной кислоты, так как способны сами синтезировать ее. Антагонистическое действие ПАБ *in vivo* показано Селби [1296], который обнаружил, что одновременное введение ПАБ и сульфанил-

амида приводило к полной утрате активности этого лекарственного вещества при стрептококковой инфекции у мышей.

Филдс [517] попытается найти более рациональный подход к проблемам химиотерапии. Он использовал для этой цели данные об антагонизме между сульфаниламидными препаратами и *n*-аминобензойной кислотой, работы Фэггслина о механизме действия производных мышьяка (гл. 10, разд. 1) и собственные работы по ртутным соединениям. Филдс пришел к выводу, что действие лекарственного вещества на паразита очень сходно с процессом ингибирования фермента инородным веществом и что многие из наиболее эффективных ингибиторов ферментов являются аналогами их субстратов.

В фармакодинамике эти взаимоотношения в тому времени стали уже общепризнанными (гл. 6, разд. 2). Филдс писал о двух типах инактивации фермента в качестве моделей для объяснения действия лекарственных веществ: 1) ингибитор соединяется с ферментом и вытесняет субстрат или кофермент, сходный по структуре с ингибитором; 2) ингибитор соединяется с субстратом или коферментом.

Подобное отождествление некоторых эрлиховских рецепторов с ферментами дало толчок развитию химиотерапии и послужило действенным стимулом для биохимического исследования внутренних и внешних ферментных систем паразитов, выяснения природы их метаболитов и создания синтетических веществ, молекулы которых по структуре были бы настолько близки к молекулам метаболитов, что могли использоваться бактериями вместо них, и в то же время достаточно отличны от них для того, чтобы нарушить процессы жизнедеятельности бактерий. Развивая выдвинутую Эрлихом аналогию (ферменты и их метаболиты относятся друг к другу, как ключ к замку), можно считать, что химиотерапевтические препараты играют роль ключа, который подходит к замку настолько, чтобы войти в него, но при этом вывести его из строя (гл. 6). Эти идеи были восприняты с преувеличенным энтузиазмом. Без числа синтезировались разнообразные аналоги природных метаболитов. Большая часть из них оказывалась не менее токсичной для хозяина, чем для паразита. Почему так получалось и как эти трудности были преодолены, рассказано в гл. 6.

**Антибиотики.** Через 7 лет после появления сульфамидных препаратов в клинику начали применять первый антибиотик — *пенициллин*. Антибиотики — это низкомолекулярные, обладающие избирательной токсичностью вещества, которые вырабатываются бактериями и плесневыми грибами. Название «антибиотик» не имеет смысла, так как нет никаких доказательств в пользу того, что выработка этих веществ вызывается потребностью в защите от естественных врагов. В самом деле, если бы выработка пенициллина была жизненно важна для *Penicillium notatum*, то те немногие штаммы, которые продуцируют его, были бы широко распространены в природе, в то время как в действительности они встречаются крайне редко. Дело обстоит так, что бактерии и грибы начинают продуцировать вещества, которые мы называем антибиотиками, после того как они завершают логарифмическую (быструю) фазу своего развития и вступают в стационарную фазу. Их синтез происходит в результате взаимодействия ферментов с субстратами — взаимодействия, которое в нормальных условиях приводило бы просто к росту, а у высших форм было бы на этой стадии подавлено по механизму обратной связи [1572]. В производстве антибиотиков стационарную фазу стремятся использовать максимально, ускоряя ее наступление и искусственно продлевая ее. Прежде чем рассмотреть наиболее важные антибиотики, выпускаемые в настоящее время, мы коротко расскажем об истории открытия и применения антибиотиков.

В 1929 г. Флеминг [521] обнаружил, что один штамм плесневого гриба *Penicillium notatum*, который случайно попал в культуру стафилококка, вырабатывает какое-то низкомолекулярное вещество, высоко токсичное для

грамположительных бактерий и слабо токсичное для млекопитающих. Однако вещество это показалось ему слишком нестойким, для того чтобы заняться его выделением, и он более им не занимался. В 1938 г. Флори пришла в голову мысль, что из бактерий и плесневых грибов можно получать значительно более эффективные антибиотики, чем такие малоактивные соединения, как перекись водорода, спирт, пиоцианаза и уксусная кислота. Систематические исследования, проведенные Флори и его коллегами в Оксфорде, привели их вновь к пенициллину [299, 523, 524]. Они научились выделять пенициллин в чистом состоянии и доказали его исключительную эффективность в условиях клиники. Вначале пенициллин применяли в виде смеси природных гомологов. Позднее было обнаружено, что в определенных условиях (если выращивать плесень в присутствии фенилуксусной кислоты [1025]) удается получать в чистом виде самый активный из них — бензилпенициллин (10.7) (гл. 10, разд. 2). Усовершенствование процессов экстракции и ферментации привело постепенно к такому положению вещей, что пенициллин оказался самым дешевым из всех химиотерапевтических препаратов.

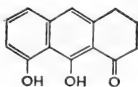
Выдающиеся успехи пенициллинотерапии в лечении местных и общих бактериальных инфекций явились следствием его высокой избирательности (о механизме этой избирательности см. в гл. 10, разд. 2). Токсичность пенициллина для млекопитающих настолько мала, что его считают самым безвредным из всех существующих антибактериальных средств (правда, в редких случаях отмечается сенсibilизация к нему). В 1948 г. Бротцу обнаружил в море, неподалеку от побережья Сардинии, плесень *Cephalosporium*, из которой были получены антибиотики группы цефалоспорины (гл. 10, разд. 2).

Работы по изысканию антибиотиков, ведущиеся во всех странах мира, привели к открытию в культурах различных низших организмов большого числа разнообразных антибактериальных веществ. Большинство этих соединений оказалось слишком токсичным для млекопитающих. Из веществ, нашедших широкое клиническое применение, гораздо больше таких, которые получены не из плесеней, а из актиномицетов — особого класса микроорганизмов, которые из-за структуры клеточных оболочек относят к бактериям. Из различных видов рода *Streptomyces*, относящегося к актиномицетам, были получены следующие антибиотики, которые нашли применение в клинике: а) *хлорамфеникол* (открыт Буркхольдером в культуре, выделенной из почвы на мульчированном поле в Венесуэле), б) *ауреомицин* — первый из тетрациклинов (Даггар, культура была выделена из почвы, взятой с фермы на Миссури), в) стрептомицин (Ваксман, культура была выделена из желудка цыпленка, а позднее из почвы), г) множество других, менее распространенных, например *циклосерин*, *эритромицин*, *неомицин*, *новобиоцин* и *виомицин*. Кроме того, из истинных бактерий (эубактерий) был получен *тиротрицин* (Дьюбо), *полимиксины* и *бацитрацины*.

Существуют также антибиотики, обладающие противогрибковой активностью. К ним относятся: *гризеофульвин* из *Penicillium griseofulvum*, *амфотерицин В* и *нистатин*, выделенные из стрептомицетов. Эти антибиотики находят применение в клинике. Об амфотерицине В (фунгизоне), впервые полученном из *Streptomyces nodosus*, изолированного из почвы в Венесуэле, речь пойдет ниже, в гл. 12, разд. 2. Все эти антибиотики находят применение в клинике, тем не менее уже назрела необходимость в значительно более активных и избирательно действующих соединениях.

Из различных антибиотиков с канцеростатическим действием применение в клинике нашел только *актиномицин D*. Однако перспективными являются также теназоновая кислота, антрамицин, стрептонигрин, хедацедин, кордицепин. Сюда же можно отнести хромомицин А<sub>3</sub> (Япония), митрамицин (США) и оливомицин (СССР). Все это многоядерные соединения (3.3), которые находят лишь ограниченное применение в клинике для лечения редких

форм рака. Эти три антибиотика ингибируют ДНК-зависимый синтез РНК, но, в отличие от актиномицинов, активны только в присутствии магния.

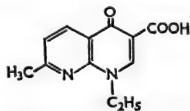


*Многоядерный скелет некоторых канцеростатических антибиотиков*  
(3.3)

Известны различные механизмы действия антибиотиков. В основном они а) препятствуют синтезу нуклеиновых кислот или белков (актиномицин, хлорамфеникол, стрептомицин, тетрациклины; см. гл. 1, разд. 4, а и б); б) препятствуют синтезу мукопептидов и, следовательно, мешают процессу образования новых клеточных стенок (пенициллин, ванкомицин; см. гл. 10, разд. 2); в) повреждают плазматические мембраны (амфотерацин, полимиксин; см. гл. 12, разд. 2) или, реже, г) вмешиваются в процессы окислительного фосфорилирования, а также в метаболические процессы на стадиях, сопровождающихся поглощением или высвобождением энергии (например, антимицин; см. гл. 1, разд. 4, г и д). Во всех этих разнообразных процессах ингибирования антибиотики действуют, по-видимому, как аналоги метаболитов (гл. 6, разд. 1), по крайней мере на одной из стадий процесса ингибирования. Подробнее о механизме действия антибиотиков см. [597].

*Синтетические антибактериальные препараты.* В этой области внимание было сосредоточено преимущественно на средствах против тех микроорганизмов, которые почти нечувствительны к действию антибиотиков и сульфамидных препаратов. В том, что туберкулез из тяжкого бедствия превратился в легко излечимое заболевание, главную роль сыграл изониазид — очень простое по структуре соединение (гидразид изоникотиновой кислоты) (9.39) [532]. *n*-Аминосалициловая кислота, еще более простое соединение, служит ценным вспомогательным средством при лечении туберкулеза.

Антисептики, применяемые для лечения инфекций мочевых путей, т.е. активные в отношении грамотрицательных бактерий, весьма редки, но в последние годы в практику были внедрены два эффективных препарата такого рода. Самый новый из них, налидиксиновая кислота (3.4), высокоактивен в отношении грамотрицательных бактерий *in vitro* и *in vivo* и неактивен в отношении грамположительных бактерий (следует отметить, что для обычных антисептических средств характерно как раз обратное). По своей химической структуре налидиксиновая кислота представляет собой 1-этил-7-метил-4-оксо-1,8-нафтиридин-3-карбоновую кислоту — первый лекарственный препарат, содержащий нафтиридиновую циклическую систему, и один из немногих препаратов анионного типа, обладающих высокой активностью. Препарат этот оказался очень эффективным в условиях клиники.

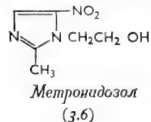
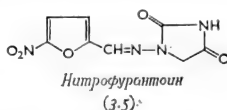


*Налидиксиновая кислота*  
(3.4)

Приблизительно до 1945 г. господствовало мнение, что лекарственные вещества, содержащие нитрогруппы, непременно должны быть очень токсичными. Причиной такого предубеждения послужили многочисленные случаи метгемоглобинемии у рабочих военных заводов, вызываемой веществами типа

тринитротолуола, которые, попадая в организм через кожу, восстанавливаются далее в производные анилина. Однако нитропроизводные, не содержащие бензольного кольца, такой реакции не дают. Введение Доддом в 1946 г. [434] в практику лекарственных веществ, являющихся производными нитрофурана, открыло новый богатейший источник для получения химиотерапевтических средств. Нитрофурантоин (3.5) (фурадантин) применяют внутрь при инфекциях мочевых путей. Препарат активен как в отношении грамположительных, так и в отношении грамотрицательных микроорганизмов.

Пожалуй, из всех лекарственных веществ, принадлежащих к группе нитросодержащих гетероциклических соединений, наименее выраженным побочным действием обладает метронидазол (3.6) (флагил), который представляет собой 1- $\beta$ -оксиэтил-2-метил-5-нитроимидазол. Он применяется внутрь для лечения трихомонадного вагинита (суточная доза 0,6 г не дает никаких побочных явлений). Метронидазол в качестве средства для лечения этой трихомонадной инфекции полностью заменил нитрофураны [812].

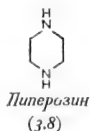
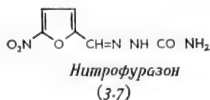


*Синтетические препараты для лечения протозойных инфекций.* Шизонтоцид хлорохин (8.28) почти полностью вытеснил мефакрин в качестве средства для лечения малярии (хлорохин, производное 4-аминохинолина, был открыт в Германии во время второй мировой войны и независимо, несколько позднее, союзниками [471, 496]), а примахин (2.20) заменил памахин в качестве гаметоцидного средства [471]. Исключительно эффективный в качестве профилактического антималярийного средства прогугуанил (хлоргугуанид, палудрин) (2.18) был открыт в Англии к концу второй мировой войны [380] и испытывался на добровольцах в Австралии [497]. Позднее на смену ему пришел еще более активный препарат с профилактическим действием, пириметамин (дараприм) (6.25), найденный в результате совместных усилий английскими и американскими исследователями [499].

Ароматические диамидины, например пентамидин (8.24), обладают высокой активностью в качестве средств для профилактики трипаномоза у человека и лечения лейшманиоза. Синтезированы они были Эвинсом и др. [490]; биологические эксперименты были осуществлены Кингом и др. [823], а также Адлером и Черноморцем [14]. Трипаномоз крупного рогатого скота был бедствием такого масштаба, что до недавнего времени почти во всех районах центральной Африки разводить скот было вообще невозможно. Появление новых синтетических препаратов в корне изменило положение вещей. Часто излечение трипаномоза у скота достигается уже после однократного введения какого-либо из производных аминифенантридина [249, 289], например димидия или этидия (гл. 8, разд. 3). Впервые синтезы препаратов для этой цели осуществил Уолс. Именно его работы поддерживали интерес научной общественности к этим вопросам в те времена, когда они казались забытыми [1484]. Сходное лекарственное соединение, протидий, обладает профилактическим действием. Хорошо себя зарекомендовал в качестве профилактического средства также хинапирамин (8.26): однократное введение в дозе 5 мг/кг предохраняет скот от заболевания по меньшей мере в течение трех месяцев [379, 4549].

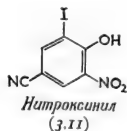
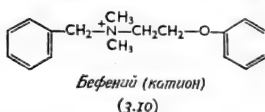
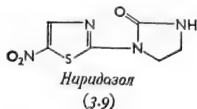
Кокцидиоз у птиц — заболевание, вызываемое *Eimeria* (споровики, в некоторых отношениях сходные с возбудителями малярии у человека). Из-за кокцидиоза погибало огромное количество птицы, причем распространенность

этой инфекции сильно возросла в результате применения современных бройлерных методов выращивания птицы. Справиться с этим заболеванием можно, используя для этой цели три типа лекарственных препаратов, которые добавляют в питьевую воду: а) сульфамидные препараты, в особенности сульфатинноксалин, б) ампролий — антиметаболит тиамина (гл. 6, разд. 4) и в) нитрофуразон (3.7).



Найдено большое число новых ценных амебоцидных средств контактного действия, которые эффективны при непосредственном соприкосновении с колониями амев, а также с трофозонтами, присутствующими в просвете кишечника. К числу таких средств относится биалиламикол (9. 51). Для воздействия на трофозонты, недоступные для непосредственного контакта (например, находящиеся в абсцессе печени), нужны амебоцидные средства общего действия. К счастью, у врача в настоящее время есть выбор; его возможности не ограничиваются более таким средством, как эметин, он может применять хлорохин (8.28), который оказался весьма эффективным. Чрезвычайно перспективен также ниридазол (3.9).

*Синтетические противоглистные препараты.* В последние годы появились противоглистные средства усовершенствованного типа и разнообразного назначения. Анкилостомидоз у человека хорошо излечивается тетрахлорэтиленом, который пришел на смену очень токсичному четыреххлористому углероду. Еще более эффективен бефений (3.10) (алкопар) — для излечения достаточно однократного приема (5 г). Для борьбы с аскаридами и острицами совершенно незаменимым средством оказался пиперазин (3.8) [1526]. Это одно из тех редких соединений, которые, подобно пенициллину, характеризуются необыкновенно высокими значениями химиотерапевтического индекса.



Для лечения филяриатоза с большим успехом применяется диэтилкарбамазин (хетразан, 1-диэтилкарбамоил-4-метилпиперазин) [672]. Для лечения домашних животных, особенно овец, очень эффективным оказался фенотиазин [416], однако в настоящее время на смену ему приходят новые, более активные соединения, например метиридин (проминтик, 2,2'-метоксиэтилпиридин) и тиабендазол (2,4'-тиазолилбензимидазол).

Более успешным стало и лечение шистосоматоза (бильгарциоза) после появления нового очень активного лекарственного препарата ниридазола

(3.9) (амбилхар), который представляет собой 1-(5-нитро-2-тиазолил)-2-имидазолидинон. При этом длительность лечения — всего одна неделя, а гарантии излечения гораздо надежнее, чем при использовании сурьмы [871]. Препарат накапливается в гонадах и в оплодотворенных яйцах червей. Препятствием для применения ниридазола в качестве профилактического средства служит то обстоятельство, что в малых дозах он слишком быстро разрушается. Новые сведения о лейкантоне — синтетическом препарате, который в течение длительного времени был единственной заменой сурьмы при лечении шистосоматоза, см. в гл. 7, разд. 2, в.

Печеночная двуустка (*Fasciola hepatica*) у домашних животных легко изгоняется с помощью нитроксинила (3.11).

*Действие прямое и опосредованное.* Большинство химиотерапевтических средств действуют на паразита непосредственно, что находится в соответствии с одним из постулатов Эрлиха (см. разд. 1 настоящей главы). Было, однако, обнаружено, что существует небольшое число веществ, которые действуют *опосредованно*. Так, стратолон, полисахарид анионного типа, выделенный из *Penicillium stoloniferum*, стимулирует образование интерферона как в целостном организме животного, так и в культуре ткани и, следовательно, оказывает опосредованное противовирусное действие, например при инфекциях вирусом осповакцины [989].

Далее, стрептомицин и тетрациклины подавляют амебиаз, вызывая гибель бактерий, которые служат для амёб источником одного из факторов роста. Многие глистогонные средства действуют таким образом, что нарушают способность паразитов прикрепляться к стенке кишечника, и они выводятся вместе с испражнениями. Предполагают, что карбамазин при филяриатозе так изменяет поверхностные свойства червей, что они с большой легкостью уничтожаются гистиоцитами печени хозяина [660]. Тритон А-20, типичный неионогенный детергент, который является полиэфиром фенола, по-видимому, изменяет поверхностные свойства микобактерий туберкулеза таким образом, что моноциты оказываются в состоянии разрушить их (гл. 12, разд. 2). Однако для использования в терапии тритоны непригодны из-за слишком высокой токсичности для макроорганизма. Многие трипаноцидные средства действуют как прямым способом, так и опосредованно (гл. 8, разд. 3, г). О возможности опосредованного действия лекарственных веществ через индукцию синтеза ферментов см. гл. 4, разд. 3.

*Клинические исследования.* Становится все более очевидным, что лабораторные животные в опытах ведут себя не так, как человек в сложном тройственном комплексе взаимоотношений между лекарственным веществом, организмом-хозяином и паразитом. В настоящее время уже осознана необходимость проводить клинические исследования на более высоком научном уровне. Очень часто обнаруживается, что между результатами, полученными на лабораторных животных, и данными испытаний лекарственного вещества в клинических условиях на статистически достоверном числе больных и в строго контролируемых условиях, нет соответствия. Впрочем, эти вопросы уже обсуждались в предисловии.

#### 4. История изыскания инсектицидов и средств защиты урожая

Параллельно с развитием химиотерапии млекопитающих проводились также работы в другой области — изыскания средств для защиты сельскохозяйственных растений от сорняков, грибов и насекомых. Значение инсектицидов, однако, гораздо шире, так как многие насекомые являются эктопаразитами человека и домашних животных. Кроме того, и эти, и другие насекомые нередко оказываются переносчиками инфекций.



Если химическая борьба с сорняками стала проводиться совсем недавно, то попытки борьбы с вредными насекомыми предпринимались уже давно. В качестве главных инсектицидов вначале использовали неорганические соединения, например арсенат свинца, затем стали использовать некоторые растительные вещества — табачную пыль и пиретрум в порошке. Большие успехи были достигнуты после введения в практику ДДТ (хлорфенотен, дикофан) (2.30) во время второй мировой войны. Очень быстро стало очевидным огромное экономическое значение ДДТ, который уничтожал, например, колорадского жука (вредитель картофеля), яблоневое цветоеда, томатную моль; результатом применения ДДТ явилось значительное увеличение урожая культурных растений [1520]. ДДТ оказался, однако, неэффективным против тли, трипсов и слизней. ДДТ синтезировал Зейдлер еще в 1874 г. [1602], однако его инсектицидные свойства обнаружены были гораздо позднее, в 1936 г. [867].

Вскоре кроме ДДТ стали применять и другие хлорированные углеводороды, например  $\gamma$ -гексахлорциклогексан, предложенный Слейдом [1338], а также очень активные, но токсичные препараты группы дильдрина и альдрина, введенные в практику в 1945 г. (гл. 4, разд. 6, *Первая система насекомых*).

Около 1945 г. произошло событие исключительной важности — появились фосфорорганические инсектициды. Механизм их действия заключается в ингибировании эстераз. Первые представители инсектицидов этой группы, открытые Шредером в Германии, для человека были токсичны не менее, чем для насекомых. Позднее, модифицируя структуру фосфорорганических инсектицидов, удалось получить соединения, которые превращаются в токсичное вещество только в результате определенных химических реакций. Как это удалось осуществить, рассказано в гл. 10, разд. 3. Эти вещества нетоксичны для растений, так как у них отсутствует холинэстераза.

Огромное экономическое значение имеет алкалоид рианодин [1563] — инсектицид контактного (наружного) и кишечного (внутреннего) действия, специфичный в отношении яблоневой плодовой плодожорки. Насекомое гибнет от вялого паралича. Другой продукт растительного происхождения, ротенон (1.17), применяется против вредителей, поедающих листья. На свету он быстро теряет свою токсичность.

Более подробные сведения об инсектицидах даются в работах [1069] и [990]. Избирательность действия инсектицидов на практике удается значительно увеличить, если применять их в показанное время и соблюдать надлежащие условия их нанесения.

Использование ДДТ для предотвращения эпидемии тифа в Неаполе в январе 1944 г. стало событием исторической важности. Более миллиона гражданских лиц были подвергнуты обработке ДДТ для уничтожения вшей, которые являются переносчиками этого тяжелого эпидемического заболевания. Положение было таково, что, разразись в это время эпидемия тифа в Европе, она унесла бы, вероятно, не меньше жизней, чем война. ДДТ оказался также эффективным средством подавления выплода личинок комара, в результате чего с его помощью удалось значительно снизить частоту заболеваний малярией. Следует отметить и эффективность ДДТ в борьбе с бытовыми насекомыми.

Важное санитарно-гигиеническое значение имела разработка активных репеллентов — диметилфталата и  $m$ -дизтилтолуамида, отпугивающих комаров, а также дибутилфталата, отпугивающего клещей-переносчиков таежного энцефалита. (По вопросу о связи между химическими и физическими свойствами соединений и их действием на комаров в качестве репеллентов см. [314].) Надежным средством лечения чесотки оказался бензилбензоат.

*Фунгициды, используемые для защиты растений.* Экономический ущерб, наносимый обществу такими заболеваниями как фитофтороз картофеля,

милемью винограда, ржавчина и головня пшеницы, огромен (см. в частности, [882]). Для борьбы с этими заболеваниями, вызываемыми патогенными грибами, применялись различные методы: севооборот, использование обеззараженных семян, выращивание устойчивых сортов. Однако способность к адаптации у грибов столь велика, что все эти методы оказываются часто недостаточно эффективными. Методы биологической борьбы, какое бы будущее их ни ожидало, не могут конкурировать с фунгицидами, которые дают немедленный защитный эффект. Таким образом, фунгициды в настоящее время служат наиболее важным средством борьбы с заболеваниями, которые вызываются патогенными грибами.

Почти все известные в настоящее время средства борьбы с патогенными грибами относительно мало специфичны. Для того чтобы фунгициды проникли в клетки гриба (а не растения), увеличивают их липофильность, для чего чаще всего к его молекулам присоединяют углеводородную боковую цепь. В клетках гриба активность молекулы фунгицида также имеет неспецифичный характер; действие их направлено сразу на многие ферменты или какие-либо другие уязвимые компоненты клетки. В целом соединения, используемые в качестве фунгицидов, мало токсичны для позвоночных; кроме того, они не обладают способностью провоцировать развитие у грибов резистентных форм.

Фунгициды либо наносят на наружные части растений (при этом надо иметь в виду, что большая часть растений может оказаться вынута, в земле), либо дают им действовать изнутри. Это и есть то, что называют *химиотерапией растений*. Условия осуществления химиотерапии у растений сложнее, чем у животных; у них слабо развита циркуляторная система, нет фагоцитов, которые помогали бы химиотерапевтическому агенту, не существует механизма детоксикации и выведения лекарственного вещества после того, как он сделал свое дело.

В качестве химиотерапевтических средств применительно к растениям используют 8-оксихинолин [9,32] и стрептомицин, например для борьбы с голландской болезнью вяза [725] и с патогенными грибами, поражающими посевы хлопка [1390].

Химиотерапевтический агент обычно вносят в почву, откуда он попадает в растения через корневые волоски, однако в случае древесных пород агент можно вводить путем инъекции. В некоторых случаях удается создать в растениях летальные для гриба условия. Так, под влиянием феноксиуксусных кислот растение начинает вырабатывать кислые пектины вместо пектиновых эфиров, которыми питаются грибы. При этом растения оказываются малорослыми, но продолжают размножаться [353].

Токсические вещества избирательного действия нашли применение еще в одной сфере сельскохозяйственного производства — для защиты семян при хранении и в почве перед прорастанием. Семена зерновых культур для защиты от патогенных грибов обычно опыляют хлоранилом (тетрахлорбензохиноном) или нитратом фенилртути. Фенильная группа придает липофильные свойства нону ртути (II) и помогает таким образом проникновению токсического агента в организм гриба [972]. При этом процесс прорастания семян не нарушается.

В настоящее время посевы хлебных злаков всегда защищают от патогенных грибов, что очень благоприятно сказывается на урожаях. Основной кальциймедиосульфат (бордоская жидкость), который начали применять в качестве фунгицида в 1885 г. [999], используется до сих пор так же, как и элементарная сера, которую в этих целях используют, пожалуй, уже в течение 2500 лет. Несмотря на широкую доступность и дешевизну этих традиционных средств, открытие в 1934 г. Тисдейлом и Уильямсом [1426] и независимо от них Мартином высокоактивных соединений: диметилдитиокарбаминной кислоты (3,12), а также ее железной и цинковой солей, фербама и цирама—

было расценено как значительный успех.



*Диметилдитиокарбаминовая кислота*  
(3.12)

Эти вещества оказались нетоксичными для человека, скота и высших растений.

Механизм действия этих соединений объясняется в гл. 9, разд. 7, в. Особую ценность для борьбы с фитофторозом картофеля и томатов представляет этилен-1,2-бис-дитиокарбаминовая кислота (2.26) и ее натриевая и цинковая соли (набам и цинеб). Ценными фунгицидными средствами для защиты посевов зерновых злаков служат также глиодин, додин (гл. 12, разд. 2) и каптан (N-трихлорметилтио-4-циклогексен-1,2-дикарбоксимид), предложенный в 1952 г. [827]. Каптан соединяется с сульфгидрильными группами некоторых ферментов и тем самым ингибирует их. При этом некоторые более растворимые тиолы в клетках гриба также взаимодействуют с каптаном, так что здесь создается «место потерь» [1192]. Однако в результате этой реакции происходит выделение карбонилсульфида — газа, оказывающего сильное фунгитоксическое действие [930, 1353].

Самым мощным фунгицидным средством является антибиотик циклогексимид (1.15) (актидион), упоминавшийся уже в гл. 1, разд. 4. Механизм его действия заключается в ингибировании процесса переноса аминокислот от тРНК к рибосомному белку [1318]. Однако высокая ингибирующая способность циклогексимиды остается в значительной степени не реализованной, так как он слишком медленно проникает в клетки гриба. Был найден очень специфичный фунгицид, активный только в отношении базидиомицетов: 5-карбоксанилидо-6-метил-2,3-дигидро-1,4-оксатин [456].

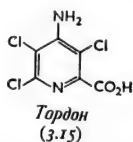
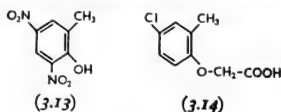
Более подробные сведения о химическом механизме фунгицидного действия см. в работе [1084]; о биологических аспектах этого действия — в работе [724].

*Гербициды.* Более пятидесяти лет прошло с тех пор, как Боннэ (Франция) показал, что дикуую горчицу можно уничтожить, не повредив при этом овес, если разбрызгать на поле с овсом раствор сульфата меди. В 1911 г. другой француз, Рабатэ показал, что для уничтожения сорняков можно безопасно и с успехом применять раствор серной кислоты [1170]. Систематическая проверка этого метода началась в Англии только в 1932 г. Как раз в этом году французы Трюфо и Пастак [1440] обнаружили, что динитро-*о*-крезол (3.13) (вещество, известное с 1866 г.) избирательно уничтожает сорняки [1439, 1440].

К середине 30-х гг. почти полностью удалось преодолеть предубеждение, с которым была встречена идея применения избирательно действующих токсических гербицидов. Вскоре в сельском хозяйстве начали использовать и другие гербициды — феноксиуксусные кислоты. Вначале было показано, что по характеру своего действия они схожи с гормонами растений и стимулируют рост корней [1608]. Позднее при опрыскивании листьев растений было обнаружено, что они действуют преимущественно как гербициды [1299, 1417]. Это открытие повлекло за собой повсеместное применение этих веществ в огромных количествах. Феноксиуксусные кислоты действуют подобно природному ауксину (индолилуксусной кислоте), однако большинство растений не способны разрушать избыточные количества этих веществ, хотя и обладает механизмами для ингибирования природного гормона. Таким образом, гибель широколистных растений происходит в результате избыточного роста. При этом на каждый гектар затрачивается всего около 200 г гербицида.

Из гербицидов этого типа наиболее широкое применение находят 2-метил-4-хлорфеноксиуксусная кислота (3.14) (метоксон) и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д, или хлороксон). Опыты на 30 обычных однолетних сорняках хлебных злаков показали, что можно почти полностью уничтожить сорняки, если гербицид и момент его применения выбраны правильно. Трихлорфеноксиуксусная кислота (2,4,5-Т) особенно полезна как средство уничтожения многолетних кустарниковых пород типа дикой ежевики.

Остается неизвестным, почему гербициды почти не повреждают хлебные злаки. Были проведены эксперименты со специальной целью создать условия, при которых хлебные злаки поглощают не меньше феноксиуксусных кислот, чем сорняки (в обычных условиях они поглощают их несколько меньше), однако они от этого не пострадали [1567]. Гибнут, вообще говоря, двудольные растения, а однодольные выживают, но дело не только в этом: известно, например, что соединения (3.13) и (3.14) повреждают луковичные растения, которые являются, разумеется, однодольными. Более подробные сведения о феноксиуксусных кислотах приводятся в гл. 11, разд. 1 и 2.



3,5,6-Трихлор-4-аминопиридин-2-карбоновая кислота (3.15) (тордон) также представляет собой гербицид с ауксиноподобным действием, но значительно более эффективный и устойчивый, чем феноксиуксусные кислоты [811]. Этот препарат в настоящее время используется очень широко.

Гербициды из группы цианофенолов были задуманы как вариант нитрофенольных препаратов, к которым относится, например, соединение (3.13), однако они обладают и некоторыми специфическими свойствами. Типичным примером может служить 2,6-диод-4-цианофенол (3.16) (иоксинил, актрил), предложенный одновременно Уэйном [1480] и независимо от него Карпентером и Хейвудом [291]. Это гербицид контактного типа; гибель наступает в результате местного некроза. Препарат избирательно действует на проростки двудольных сорняков хлебных злаков и часто применяется совместно с 2-метил-4-хлорфеноксиуксусной кислотой (метоксон) (3.14), так как эти вещества являются синергистами друг по отношению к другу.

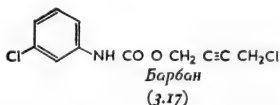
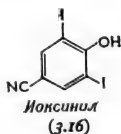
Аналог иоксинила, содержащий бром вместо иода, обходится значительно дешевле, но он активен против сравнительно немногочисленных видов сорняков [290]. Однако эффективность бромных аналогов иоксинила резко увеличивается, если гидроксильную группу фенола заменить эфирной. Особенно активным оказался бромикоксинилоктаноат. Широкое применение находит также 2,4-динитро-втор-бутилфенол, гомолог соединения (3.13), в качестве средства, уничтожающего двудольные сорняки гороха, который и сам является двудольным растением [1203]. Введением заместителей в положения 2 и 6 нитрофенолов и цианофенолов удается получить соединения со значительно более выраженной активностью. Вопросы ионизации и пénéтрации нитрофенолов освещены в гл. 8, разд. 5.

Замещенные 2-трифторметилбензимидазолы, например соединение (8.33), используются в качестве контактных гербицидов нового типа, действующих как разобщающие агенты окислительного фосфорилирования. Это не означает, однако, что эти вещества действуют только таким путем [269, 784]. О том, как действие этих соединений зависит от констант ионизации, см. гл. 8, разд. 5.

Были обнаружены также вещества, способные уничтожать однодольные сорняки двудольных растений; из них наиболее широкое применение нашла 2,2-дихлорпропионовая кислота (далапон, даупон). Механизм ее действия обсуждается в гл. 6, разд. 4.

Применяются для этой цели и карбаматы, которые представляют собой митотические яды. Предложены они были Темплменом и Секстоном [1416].

Для уничтожения однодольных сорняков применяют изопропил-N,3'-хлорфенилкарбамат, не слишком токсичный для двудольных растений и для млекопитающих, в организм которых он быстро обезвреживается. Еще более избирательным действием обладает барбан (3.17) (4-хлорбутин-2-ил-N,3'-хлорфенилкарбамат), а также диаллат (S-2,3-дихлораллил-N,N-диизопропилтиолкарбамат) [717], которые подавляют рост овсяга на полях зерновых злаков [363].



Дикват и паракват представляют собой гербициды, поражающие листья, и применяются в качестве замены культивации. Их действие обусловлено образованием свободных радикалов (гл. 13, разд. 1).

Существует различие между гербицидами, которые наносят опрыскивателем на листву, и теми, которые вводятся в почву. В последние годы эти последние стали вытеснять первые. Гербициды, предназначенные для введения в почву, должны слабо растворяться в воде, хорошо абсорбироваться частицами почвы и легко всасываться корневыми волосками растений. Они избирательно действуют на быстро растущие сорняки, которые имеют обильные корни, расположенные близко к поверхности, и щадят культурные растения с их медленно растущими, глубоко расположенными и более жесткими плотными корнями.

Типичными представителями этой группы гербицидов являются триазины, например симазин (1.18) и производные фенилмочевины, например (1.19). Действуют они, по-видимому, на реакцию Хилла (одна из стадий фотосинтеза, см. гл. 1, разд. 4). Бромацил (3-втор-бутил-5-бром-6-метилурацил), по-видимому, также действует на реакцию Хилла, однако это вещество специфически активно в отношении злаков [709]. Из этой группы гербицидов наиболее широко применяются триазины. Рекомендуем обзор по биохимии и физиологии гербицидов, принадлежащий Оудесу [85].

Задача по уничтожению листвы на деревьях в некоторых отношениях сходна с задачей борьбы с сорняками. В Восточной Африке для этой цели применяют *n*-бутиловый эфир 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислоты, который разбрызгивают с воздуха. Конечная цель всей этой операции — уничтожение мух цеце — переносчиков трипаносом-возбудителей сонной болезни [184].

**Антигельминтные средства и средства для уничтожения моллюсков в сельском хозяйстве.** Нематоды обладают способностью истощать почву и повреждать корни. Типичным летучим нематоцидным средством, очищающим почву от нематод, служит 1,2-дибром-3-хлорпропан, (ДБХП), который

способен полностью очистить почву от этих червей. Средства для уничтожения моллюсков используются против улиток, в том числе против тех, которые являются переносчиками таких болезнетворных организмов, как шистосомы. Улитки поглощают из водного раствора третичные амиды, содержащие липофильную цепь из 10—16 атомов углерода, и погибают, даже если концентрация этих амидов в воде составляет всего 3 ч. на млн. [1462].

### 5. Устойчивость к лекарственным веществам и другим агентам

В 1905 г. Франке и Рёль [535], работавшие с Эрлихом, открыли явление *устойчивости к лекарственным веществам*. Произошло это так. Они наблюдали рецидив заболевания у мыши, зараженной трипаносомами, которая получила лекарственное вещество в дозах, недостаточных для полного излечения. Выяснилось далее, что повторный курс лечения положительными результатами уже не дает, так как у трипаносом вырабатывается устойчивость к действию этого лекарственного вещества, которая оказалась наследственной и, как правило, уже необратимой. Как показал позднее Йорки, для достижения трипаноцидного эффекта против устойчивых штаммов требуется в 250 раз большая концентрация лекарственного вещества. Такие огромные дозы обычно токсичны для организма-хозяина.

Эрлих обнаружил несколько различных типов устойчивости у трипаносом. Паразиты, которые приобретали устойчивость к действию трипанового красного, становились устойчивыми ко всем азокрасителям вообще. Другие штаммы, например штаммы, устойчивые к атоксилу, обнаруживали устойчивость к действию всех фениларсеновых кислот. Третьи, устойчивые к действию парафуксина, оказались устойчивыми ко всем остальным производным трифенилметана. Однако штаммы трипаносом, устойчивые к препарату, относящемуся к какому-либо одному из этих классов соединений, оказались чувствительными к агентам, принадлежащим к другим классам, если устойчивость к ним не вырабатывали специально.

Позднее Эрлих обнаружил две группы производных мышьяка, между которыми не отмечалось перекрестной резистентности. В настоящее время таких групп насчитывается уже три. К первой группе относятся соединения (3.18) с заместителями, обладающими средством к воде (например, —ОН — и —NH<sub>2</sub>-группами), которые не диссоциируют с образованием анионов при pH 7. Почти все общеупотребительные лекарственные препараты мышьяка принадлежат к этой группе, так как в большинстве случаев препараты этого типа имеют выгодные значения терапевтических индексов. Было также обнаружено, что производное акридина триафлавин (эуфлавин) (3.23) принадлежит к этой же группе, так как устойчивые к нему штаммы трипаносом обязательно резистентны и к препаратам мышьяка типа (3.18).

Вторая группа препаратов мышьяка (3.19) характеризуется наличием заместителей, не обладающих гидрофильными свойствами (например, CH<sub>3</sub> —, NO<sub>2</sub>—). Трипаносомы, резистентные к препаратам двух остальных групп, сохраняют чувствительность к соединениям этой группы, хотя в качестве лекарственных веществ эти препараты интереса не представляют.

Третья группа (3.20) характеризуется наличием таких заместителей, которые диссоциируют с образованием анионов при pH 7, например наличием карбоксильной группы. Такие соединения обычно безопасны для хозяина, но не приносят вреда и паразиту. Исключение составляет *n*-арсенифенилмасляная кислота, которая оказалась настолько активным соединением, что нашла применение в клинике, особенно в случаях резистентности к препаратам первой группы.

Во всех этих трех группах препаратов мышьяка степень окисления мышьяка роли не играет. Известно также, что, несмотря на многочисленные попыт-

ки, не удалось обнаружить фактов резистентности к мышьяковистой кислоте. Учитывая все это, можно сделать вывод, что за накопление лекарственного вещества в организме паразита ответственна та часть его молекулы, которая мышьяка не содержит. В то же время известно, что последующее токсическое действие оказывает именно арсеносидная группировка (гл. 10, разд. 1). Отсюда следует, что существует по меньшей мере три независимых и, по-видимому, взаимоисключающих механизма поглощения ароматических соединений мышьяка [824]. Эти примеры показывают, каким образом исследование явлений устойчивости к лекарственным веществам может помочь выяснению механизмов их поглощения.



(3.18)

$-NH_2$  может быть замещен  $-OH$ ,  $-AsO$ ,  $-CONH_2$  или  $-SO_2NH_2$



(3.19)

$-CH_3$  может быть замещен  $H$ ,  $NO_2$  или  $-OCH_3$



(3.20)

$-COOH$  может быть замещен  $-SO_3H$

По всем имеющимся данным, у трипаносом механизм появления резистентности всегда один и тот же: химические свойства поверхности паразита изменяются таким образом, что она становится непроницаемой для лекарственного вещества, которое таким образом остается во внешней среде [1595]. С другой стороны, известно, что в чувствительных трипаносомах препарат мышьяка может накапливаться в концентрациях, в 500 раз больших, чем во внешней среде [450]. Некоторые микроорганизмы, например бледная спирохета, по-видимому, неспособны вырабатывать устойчивость к действию препаратов мышьяка.

Изоляция от лекарственного препарата — это только один из возможных механизмов резистентности к лекарственным веществам. По соображениям историческим этот вид резистентности можно отнести к первому типу. Сходные явления наблюдались в опытах на мышах с лейкозом. Продолжительность жизни лейкозных клеток в суспензиях, как было показано, прямо пропорциональна скорости поглощения лекарственного вещества, которая варьировала очень сильно [818]. Некоторые линии клеток обладали большей или меньшей естественной устойчивостью, тогда как другие приобретали ее в результате воздействия метотрексата (6.23). Те же исследователи обнаружили при лейкозах у людей несколько случаев резистентности к метотрексату, связанной с повреждением механизма его поглощения лейкозными клетками (дополнительно об этом см. ниже).

Резистентность к лекарственным веществам чаще всего возникает в результате действия фермента, разрушающего лекарственное вещество. Такой механизм возникновения резистентности можно отнести ко второму типу. Он связан обычно с отбором соответствующих мутантов. Такие штаммы, обладающие естественной устойчивостью, составляют лишь ничтожную часть исходной культуры. Гибель чувствительных к лекарственному препарату микроорганизмов создает для резистентных штаммов благоприятные условия для роста и дальнейшего мутирования. Остроумный метод получения реплик, предложенный Э. и Дж. Ледербергами [891], позволяет наглядно показать, что клетки, устойчивые к стрептомицину, возникают в отсутствие стрептомицина. Бактерии (*E. coli*), выращенные на чашках с агаром, переносили с помощью бархатного штампа на другие чашки. В одной из чашек с агаром содержался стрептомицин. После инкубирования определяли местоположение колоний, резистентных к стрептомицину, и отбирали соответствующие коло-

нии в идентичных положениях на чашках, не содержащих стрептомицина. Эту операцию повторяли несколько раз. В результате получали чашки, целиком заполненные устойчивыми к стрептомицину организмами, которые с ним вообще никогда в контакте не находились.

В этих исследованиях выяснилось, однако, что в результате мутаций резистентность лишь в редких случаях изменяется в значительной степени. Так, устойчивость *E. coli* к хлорамфениколу [296] в результате мутационной изменчивости возросла лишь в три раза. Этот пример достаточно демонстративен и дает представление о том, чего можно в подобных случаях ожидать.

Причины резистентности *Staphylococcus aureus* к пенициллину *in vitro* обусловлены каким-то неизвестным явлением, связанным с толерантностью [559]. В то же время у устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus*, обычно выделяемых от больных, резистентность обусловлена способностью синтезировать фермент  $\beta$ -лактамазу (пенициллиназу), который гидролизует пенициллин с образованием биологически инертной пеницилловой кислоты (гл. 10, разд. 2). Эти два типа устойчивых к действию пенициллина стафилококков серологически различны.

Стафилококки, продуцирующие пенициллиназу, сами по себе чрезвычайно чувствительны к действию пенициллина, и при *небольшом числе* микробных клеток (при *малом* инокуле) для подавления роста достаточны сравнительно малые дозы антибиотика. Два конкурирующих фактора определяют исход процесса ингибирования: скорость, с которой пенициллин уничтожает стафилококки, и скорость, с которой стафилококки продуцируют фермент, разрушающий пенициллин [835].

Количество фермента, способного разрушать лекарственное вещество, может быть увеличено в культуре не только путем отбора соответствующего мутанта, вырабатывающего фермент. Существуют вещества, индуцирующие у чувствительных штаммов способность образовывать этот фермент в количествах, превышающих нормальные. Это явление известно под названием *индукции ферментов*. Синтез пермеаз, описанный в гл. 2, разд. 2, может служить примером такой индукции. Так, под влиянием бензилпенициллина некоторые штаммы золотистого стафилококка начинают вырабатывать пенициллиназу. Однако таким способом не удастся получить популяции этих микроорганизмов с постоянной резистентностью; после удаления пенициллина утраченная чувствительность быстро восстанавливается. Фермент не может быть индуцирован в клетках, в генетическом аппарате которых не содержится необходимой для этого информации. Механизм индукции синтеза пенициллиназы был впервые исследован на *Bacillus cereus* [1152].

Известно, что во многих клиниках более 90% персонала является носителями устойчивых к пенициллину и содержащих пенициллиназу штаммов *Staphylococcus aureus*. Вне клиник с таким явлением можно столкнуться только в очень редких случаях. Такое избирательное развитие резистентных штаммов можно объяснить тем, что ничтожные количества пенициллина, постоянно вдыхаемые людьми, работающими в клиниках, уничтожают чувствительные к нему штаммы микроорганизмов. При этом в слизистой носа создаются идеальные условия для роста резистентных штаммов [600].

Ценный, хотя и довольно дорогой аналог бензилпенициллина — 2,6-диметоксифенилпенициллин (метициллин, селбенин) — служит мощным индуктором синтеза пенициллиназы у стафилококков, однако сам довольно устойчив к действию этого фермента. Препарат оказался очень эффективным в условиях клиники [835].

Лейкозные клетки вырабатывают к метотрексату (6.23) резистентность не только первого, но также второго типа; она обусловлена ростом мутантных клеток, образующих большой избыток дигидрофолатредуктазы — фермента, который должен блокироваться метотрексатом. Частично этого можно избежать, применяя вместо метотрексата гомофолиевую кислоту. Эта кислота по своей



структуре похожа на фолиевую (6.17), отличаясь от нее только наличием метиленовой группы между С-9 и N-10. На раковые клетки гомофолиевая кислота действует как антиметаболит тетрагидрофолиевой кислоты [1051], а не как ингибитор редуктазы. В табл. 10 приведены некоторые типичные результаты.

Таблица 10

## Ингибирование чувствительных и устойчивых раковых клеток [1051]

Клетки саркомы 180 (в культуре)	Содержание дигидрофолатредуктазы, мкмоль на 1 мг клеток	Количество метотрексата (6.23), вызывающее 50%-ное ингибирование, мкМ	Количество гомофолиевой кислоты, вызывающее 50%-ное ингибирование, мкМ;
Чувствительные	0,6	0,08	7,0
Среднеустойчивые	25,8	9,4	6,6
Высокоустойчивые	121	160,0	5,1

У насекомых, особенно у мух, существует два основных типа резистентности к хлорированным углеводородам: один из них вырабатывается по отношению к ДДТ, а другой — к дильдрину, хлордану и бензоилгексахлориду. Из двух причин, обуславливающих резистентность к ДДТ, чаще всего отмечается превращение токсичного ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтана) (2.30) в неактивный ДДЭ (дихлордифенилдихлорэтилен) [271, 1375]. Это превращение становится возможным в результате увеличения выработки фермента «ДДТ-дегидрохлориназы» [1560].

Каковы нормальные функции этой дегидрохлориназы — неизвестно: трудно предположить, что она существует специально для обезвреживания ДДТ; вероятно, в результате отбора возник мутант, синтезирующий этот фермент в большом количестве. Проследившая судьбу гексахлорана в организме устойчивых к нему комнатных мух, удалось установить, что он превращается в растворимые в воде серусодержащие соединения, по-видимому, в меркаптурные кислоты [214]. Недавно было показано, что хлордан индуцирует синтез микросомных ферментов, которые способны разрушать другие инсектициды. Таким образом, существование перекрестной резистентности к двум веществам еще не означает, что механизм их действия одинаков (по вопросу об индукции синтеза микросомных ферментов см. гл. 2, разд. 3).

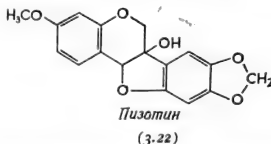
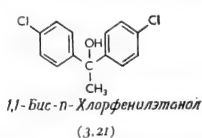
Резистентность второго типа можно снять блокированием разрушающего фермента, если удастся найти подходящие для этой цели ингибиторы. Поиски таких ингибиторов часто проводились среди аналогов метаболитов. Так, (1,1-бис-*n*-хлорфенилэтанол) (3.21), близкий по структуре к ДДТ, снимает устойчивость к ДДТ у мух, блокируя фермент, ответственный за превращение ДДТ в ДДЭ (1,1-бис-*n*-хлорфенил-2,2-дихлорэтилен) (табл. 11).

Таблица 11

## Соединение (3.21) как средство борьбы с резистентностью комнатной мухи к ДДТ [1129]

Количество вещества на одну муху, мг		Ингибирование ферментативного превращения ДДТ в ДДЭ, %	Число погибших мух, %
ДДТ	(3.21)		
0,65	0,0	0	0
0,65	0,06	20	2
0,65	0,65	49	50
0,65	1,30	65	72
0,65	6,50	84	100

ДДТ не действует на комаров, потому что в их организме от молекулы ДДТ отщепляется  $\text{HCl}$ ; тем самым ДДТ превращается в нетоксичное соединение. Однако монодейтерированный ДДТ те же комары уже неспособны обезвреживать (изотопный эффект). В связи с этим такой дейтерированный ДДТ стали производить тоннами для борьбы с малярией в широких масштабах, например в западной Индии [1143]. К сожалению, у комнатной мухи ферменты не обнаруживают столь тонкой избирательности действия.



В брюшке комнатных мух содержится богатый набор НАДФ-зависимых ферментов (сходных с ферментами, которые содержатся в печени млекопитающих — см. гл. 2, разд. 3), способных разлагать многие инсектициды, например пиретрин и метилкарбаты, а также такие синергисты, как пиперонил-бутоксид [1441].

У насекомых может появиться в результате увеличения в популяции относительного числа особей, вырабатывающих какой-нибудь новый фермент, резистентность к органическим соединениям фосфора. Так, у мутантного штамма комнатной мухи алиэстераза, которая в норме ингибируется этими соединениями, замещается фосфатазой (в меньших количествах); эта фосфатаза инактивирует фосфорорганические инсектициды, гидролизуя их [83]. К счастью, скорость гидролиза под действием этих фосфатаз очень невелика [1074].

У многих растений наблюдается естественная устойчивость к тем или иным гербицидам. Так, мокричник и подмаренник цепкий устойчивы к феноксиуксусным кислотам, так как содержат фермент, способный отщеплять их боковую цепь. Однако соответствующие феноксипропионовые кислоты они обезвреживать неспособны (фиг. 20 и гл. 2, разд. 4).

Резистентность может возникать не только в результате увеличения, но и за счет уменьшения количества какого-нибудь фермента (резистентность третьего типа). Резистентность такого рода представляет серьезную проблему при терапии лейкозов и других злокачественных заболеваний аналогами пуринов и пиримидинов. Многие из этих соединений обнаруживают свое действие на злокачественные клетки только после того, как превращаются в организме в соответствующие рибонуклеотиды в результате ферментативной реакции с 5-фосфорибозил-1-пирофосфатом (ФРПФ). Резистентность к 6-меркаптопурину и 8-азагуанину возникает за счет утраты ферментов инозин-5'-фосфатпирофосфорилазы (лейкозные клетки мышей) и гуанозин-5'-фосфатпирофосфорилазы (клетки эпидермоидной карциномы человека) [225]. В то же время количество аденозин-5'-фосфатпирофосфорилазы в резистентных клетках не изменяется.

Еще один вид резистентности (четвертый) наблюдается у бактерий, синтезирующих в избыточных количествах вещества, для которых лекарственные вещества являются антагонистами. Некоторые исследователи показали, например, что стафилококки, пневмококки и гонококки приобретают устойчивость к действию сульфаниламидных препаратов в обычных концентрациях за счет того, что образуют избыточные количества *p*-аминобензойной кислоты [874], которую удалось выделить и определить хроматографическим методом [1023]. У *E. coli* удавалось выработать устойчивость к сульфатазолу в низких концентрациях без избыточного образования *p*-аминобензойной

кислоты. Однако при выработке устойчивости к сульфатиазолу в более высоких концентрациях синтез избыточного количества *p*-аминобензойной кислоты имел место [897]. На этих примерах четко определилось существование двух различных механизмов резистентности, т. е. то же, что было обнаружено ранее у золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) по отношению к пенициллину.

Выяснилось далее, что даже у близкородственных организмов имеются различные механизмы резистентности к сульфаниламидным препаратам. Так, было обнаружено, что один из резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* обладает способностью синтезировать избыточные количества *p*-аминобензойной кислоты и превращать ее затем в фолиевую кислоту с большей интенсивностью, чем это характерно для чувствительных микроорганизмов. В тоже время другие, также резистентные, штаммы не проявляли повышенной способности синтезировать *p*-аминобензойную кислоту или способности с большей скоростью превращать ее в фолиевую кислоту [1526].

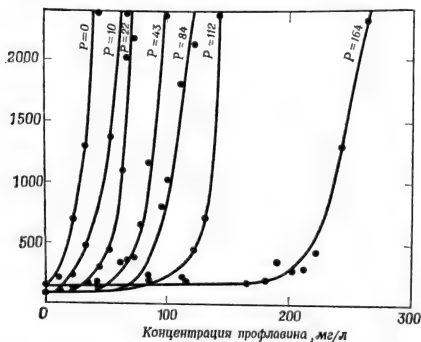
Микроорганизмы могут стать резистентными и в результате различных других изменений в химизме клетки. Так, появление у *Diplococcus pneumoniae* резистентности к аналогу фолиевой кислоты аметоптерину (6.23) сопровождается изменениями в структуре ДНК клетки. Если такую измененную ДНК добавить к культуре клеток *D. pneumoniae*, чувствительных к аметоптерину, то они приобретают резистентность без всякого контакта с этим веществом [443]. Такой вид резистентности можно было бы назвать мутацией, вызванной переносом генетического материала (пятый тип резистентности). Ниже приводится ставший классическим пример такой мутации.

Если чувствительные пневмококки культивировать в среде, содержащей экстракт устойчивых к пенициллину пневмококков, то часть вновь образующихся микроорганизмов становится устойчивой к пенициллину, причем эта устойчивость сохраняется при последующих пересевах. Было показано, что трансформирующим фактором в этих опытах служит ДНК. Таким образом, чувствительные клетки могут быть превращены в устойчивые, даже если они никогда не находились в контакте с пенициллином [726]. Устойчивость к действию стрептомицина может быть получена точно таким же способом [727]. У многих грамотрицательных бактерий имеется эписома (нехромосомная частица ДНК), известная под названием «*R*-фактор». *R*-фактор определяет устойчивость сразу к нескольким лекарственным веществам. Когда два вида бактерий, из которых один содержит *R*-фактор, находятся в контакте, может произойти «заражение» второго вида *R*-фактором и таким образом осуществляется перенос резистентных свойств от одного вида к другому. К грамотрицательным бактериям, о которых идет речь, относятся, в частности, возбудители дизентерии, холеры, брюшного тифа, туляремии и чумы. Присутствие *R*-фактора часто служит причиной резистентности этих бактерий одновременно к сульфадиазину, стрептомицину, тетрациклину и аналогам всех этих соединений. *R*-фактор можно инактивировать, во всяком случае *in vitro*, кратковременной обработкой производными аминоакридина простой структуры [1496].

У некоторых растений отмечается резистентность еще одного типа (тип шестой). В ответ на заражение грибом такие растения начинают вырабатывать фунгицидные вещества, называемые фитоалексинами [1028]. Так, в кожуре плода гороха, зараженной *Monilinia*, вырабатывается пизатин (3.22), представляющий собой хромонокумарин, обладающий высокой фунгистатической активностью [1127]. Другие, близкие по химической структуре, фитоалексины образуются у фасоли, конских бобов и красного клевера [372] и частное сообщение). Совершенно иной (седьмой) тип немутантного адаптивного механизма резистентности был описан Хиншельвудом [685], который исследовал действие профлавины на грамотрицательные *Aerobacter aerogenes* (*B. lactis aerogenes*). Резистентность в данном случае

вырабатывается по мере непрерывного варьирования условий, в результате которого микроорганизмы приспосабливаются к развитию в среде при тех именно концентрациях антибактериального вещества, к которым они уже адаптировались. В то время как резистентные свойства, обусловленные индукцией синтеза фермента, не наследуются (фиг. 27), этот эффект передается всем последующим поколениям микроорганизмов.

Хиншельвуд высказал предположение, что бактериальная клетка имеет два набора ферментов: один для роста, другой для деления — гипотеза, которая была с одобрением встречена многими исследователями. Хиншельвуд далее предположил, что вещества, вызывающие адаптацию, блокируют фермент (или ферменты), ответственные за процесс деления. Микроорганизм,



Фиг. 27. Семейство кривых, иллюстрирующих способность *Aerobacter aerogenes* расти при тех концентрациях профлавина, к которым этот микроорганизм был ранее приучен, но не при более высоких концентрациях [685].

По оси ординат длительность лаг-периода в минутах.

потеряв способность делиться, продолжает расти и увеличивается в размерах, не прекращая в то же время синтезировать ферменты роста и деления в прежних соотношениях. Как только количество образуемого микроорганизмом фермента деления превысит количество лекарственного вещества, способного блокировать его, начнется деление. Каждая из двух дочерних клеток будет длиннее, чем обычно. Дочерние клетки растут далее до тех пор, пока не наступит их черед делиться. К этому моменту каждая будет содержать больше фермента деления, чем может блокировать лекарственное

вещество (если только его первоначальная концентрация не возросла). Подобного рода исследования были проведены с различными акридинами, метиленовым синим, кристаллическим фиолетовым, хлорамфениколом и разнообразными сульфаниламидными препаратами. Хиншельвуд, однако, не отрицал возможности существования мутационного механизма устойчивости к другим лекарственным веществам и для других организмов [686].

Резистентность седьмого типа, по-видимому, ограничена такими веществами, как аминокридины, обладающие способностью специфично и прочно связываться с нуклеиновыми кислотами (гл. 8, разд. 3, б).

У *E. coli* устойчивые к действию профлавина штаммы были получены путем отбора из числа мутантов, уже содержащихся в исходной культуре (что было доказано методом реплик) [1423]. Описанный выше эффект привыкания (фиг. 27) обнаружить не удавалось, если снижение pH, обусловленное метаболизмом глюкозы, могли тем или иным способом предотвратить [1330]. Опыты по выработыванию устойчивости к действию хлорамфеникола у *Aerobacter aerogenes* привели к созданию штаммов, в 100 раз более устойчивых, чем исходные [414].

**Общие замечания о резистентности в условиях клиники.** Следует различать резистентность, развивающуюся в организме больного, от резистентности, возникающей помимо него. Так, при лечении больных туберкулезом такими лекарственными средствами, как стрептомицин, изониазид или

*n*-аминосалициловая кислота, возбудитель (*Mycobacterium tuberculosis*) может стать устойчивым к действию одного или более чем одного из этих лекарственных веществ. Было обнаружено, что выработка этой устойчивости происходит постепенно в результате отбора устойчивых мутантов в организме больного. В то же время резистентные штаммы стафилококков часто попадают в организм больного извне, от других зараженных ими людей [835].

Принимая во внимание, насколько широко используются разнообразные токсические агенты избирательного действия, приходится только удивляться, что мы не встречаемся с еще большим разнообразием типов резистентности.

Совершенно очевидно, что микроорганизмы обладают гораздо более широкими и разнообразными возможностями выработки резистентности к лекарственным веществам, чем можно было предполагать еще 20 лет назад. Так, например, известен штамм *Shigella flexneri* (бактерии кишечной группы), устойчивый к четырем различным антибактериальным агентам (сульфаниламиду, хлорамфениколу, стрептомицину и тетрациклину) [1015]. В то же время не менее очевидно, что изменчивость микроорганизмов в этом отношении небеспределельна. Так, чувствительность к стрептомицину у *E. coli* доминирует над резистентностью. Для клиники устойчивость стафилококков и гонококков к пенициллину — явление чрезвычайно неприятное, однако не следует забывать, что обнаружено оно было лишь после двадцати с лишним лет интенсивнейшего использования пенициллина.

Организм больного может приобрести резистентность либо в результате того, что почему-либо ускоряется разрушение лекарственного агента (таков механизм устойчивости к барбитуратам; см. гл. 2, разд. 3), либо в связи с тем, что сильно снижается чувствительность рецепторов (в частности, в случае морфина и никотина). Устойчивость к действию алкоголя появляется у людей главным образом на психологическом уровне, т. е. в результате постоянной тренировки внимания.

## 6. Терапевтическая интерференция

Термин *терапевтическая интерференция* был предложен Броунингом и Гелбрансеном [246] для описания открытого ими явления. Они обнаружили, что инъекция обычной дозы эуфлавина (3.23) мышам, пораженным трипаносомозом, оказалась неэффективной, если мыши предварительно получали с пищей парафуксин (3.24). В этом эксперименте осложняющим моментом послужила небольшая трипаноцидная активность самого парафуксина. Однако эту трудность удалось обойти, используя достаточно низкие дозы. В табл. 12 приведены данные, полученные в одном из типичных экспериментов такого рода. Следует отметить, что в отличие от наследуемой резистентности к лекарственным веществам эффекты, обусловленные интерференцией, не обнаруживаются в последующих генерациях микроорганизмов.

Таблица 12

Терапевтическая интерференция (на мышах, зараженных трипаносомами) [1277]

Доза парафуксина, мг	Доза эуфлавина, мг	Результат
0	0	Мыши погибли на 5—7-й день (степень паразитемии +++)
0,05	0	То же
0,25	0	То же
0	0,5	Излечение на 3-й день
0,05	0,5	Мыши погибли на 6—7-й день (+++)
0,25	0,5	Мыши погибли на 7-й день (+++)

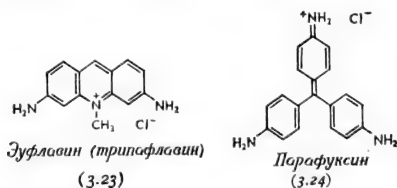
Из табл. 12 видно, что одна часть парафуксина может свести на нет действие десяти частей эуфлавина. Интерференция этих двух веществ была продемонстрирована также *in vitro*; при этом парафуксин предохранял микроорганизмы от гибели под действием эуфлавина [772]. Такой же антагонизм был обнаружен также в опытах на дрожжах [1583] и на трипаносомах [1271] (результаты типичного эксперимента приведены в табл. 13). Интересно отметить, что каждое из этих веществ в отдельности подавляют процесс потребления глюкозы, тогда как их смесь такого действия не оказывает.

Таблица 13

Интерференция между парафуксином и эуфлавином в опытах на крысах, зараженных трипаносомами [1271]

Введенное вещество	Количество глюкозы, потребленной трипаносомами за 5,5 час, мкг	Количество кислорода, потребленного трипаносомами за 5,5 час, мкг
Контроль	30,0	20,0
Парафуксин (4,9 мг)	23,0	11,6
Эуфлавин (6,5 мг)	20,5	8,0
Парафуксин (5,6 мг) и эуфлавин (6,6 мг)	26,4	20,4

Термин «терапевтическая интерференция» применим только в тех случаях, когда два вещества обладают существенным химическим сходством и, следовательно, химическое взаимодействие между ними маловероятно. Таким образом, эти вещества образуют пары, подобно метаболитам и их аналогам (антиметаболитам) (гл. 6). Основное различие здесь в том, что вещества, действующие по принципу терапевтической интерференции, не встречаются в природе. Один из примеров терапевтической интерференции в фармакологии — интерференция между аллиломорфином и морфином в опытах на собаках [1447] — описан в гл. 6, разд. 7.



Подобные явления терапевтической интерференции обычно объясняли тем, что биологически менее активное вещество обладает большим сродством к рецептору, чем более активное. Однако Гасско [657] с помощью колориметрических методов показал, что сродство трипаносом к парафуксину<sup>1</sup>, по-видимому, очень невелико по сравнению с их сродством к эуфлавию.

В дальнейшем для объяснения явлений интерференции были выдвинуты две гипотезы [22]. Согласно одной из них, парафуксин и эуфлавин адсорбируются на разных рецепторах, располагающихся, однако, в непосредственной близости друг к другу. Будучи сравнительно инертным, парафуксин, по-видимому, присоединяется к рецепторам, не имеющим жизненно важного

<sup>1</sup> Возможно, впрочем, что при этом не были учтены трудности, возникающие при колориметрировании этих реакционноспособных красителей (гл. 8, разд. 2, Псевдооснования).

значения в обмене веществ паразита; препятствует же он действию зуфлавина потому, что создает стерическую преграду для его присоединения к жизненно важным для паразита рецепторам.

В качестве второго варианта объяснения явлений интерференции была предложена гипотеза образования смешанных мицелл (гл. 12, разд. 1). Если принять в качестве логической предпосылки допущение, что лекарственные вещества действуют в мономолекулярной форме, то образующиеся мицеллы будут конкурировать с рецепторами за молекулы лекарственного вещества, связывая часть этих молекул и тем самым снижая их концентрацию. В качестве примера рассмотрим, как происходит образование смешанных мицелл в случае миристиновокислого ( $C_{14}$ ) калия. Это вещество образует мицеллы при концентрации, соответствующей 25% той концентрации, при которой образуются мицеллы лауриновокислого ( $C_{12}$ ) калия [830]. Благодаря образованию смешанных мицелл потребуется всего 15% миристиновокислого калия, для того чтобы вдвое уменьшить критическую мицеллярную концентрацию лауриновокислого калия.

Исходя из этого и было высказано предположение, что два сходных между собой по химической структуре вещества могут интерферировать путем образования смешанных мицелл. Поскольку и в самом деле критическая мицеллярная концентрация трифенилметановых производных ниже, чем это характерно для акридинов, интерференция между парафуксином и зуфлавином хорошо объясняется с этих позиций. Эта гипотеза открывает совершенно новые возможности для истолкования явлений интерференции, так как допускает, что взаимодействие между двумя интерферирующими веществами может происходить и в отсутствие паразита [22].

Янцсо и Янцсо [774] открыли явление интерференции совершенно нового типа. Эти исследователи обнаружили, что в ряду 22 окислительно-восстановительных индикаторов все члены ряда с потенциалами ( $E_0$ , см. гл. 9, разд. 4) от  $+0,12$  до  $-0,06$  в могут интерферировать с препаратами мышьяка и сурьмы (опыты на крысах, зараженных трипаносомами). Указанный эффект достигает своего максимума при величине, равной  $+0,01$  в; в частности, у метиленового синего он выражен очень сильно. Для объяснения этих явлений авторы выдвигают следующую гипотезу: интерферирующее вещество берет на себя функции переносчика водорода, в норме выполняемые ферментом, активность которого подавляется, скажем, данным мышьяковистым препаратом. Все это кажется весьма вероятным; кстати, метиленовый синий издавна применялся в биологических исследованиях в качестве заменителя дыхательных ферментов, инактивированных цианидом. Следует отметить, что аскорбиновая кислота ( $E_0 = +0,007$ ) также интерферирует с препаратами мышьяка. Явления терапевтической интерференции распространены, по-видимому, гораздо шире, чем того можно было ожидать, и возможно, что многие неудачи в терапии объясняются именно этими явлениями.

О механизме интерференции, связанном с индукцией синтеза деструктивных ферментов, см. гл. 2, разд. 3.

*Введение. Сравнительная характеристика фармакодинамики и химиотерапии*

Фармакодинамикой мы называем учение об избирательной токсичности применительно к тем случаям, когда и полезные, и вредные клетки принадлежат одному и тому же организму (гл. 1, введение). В этом смысле фармакодинамика может быть противопоставлена химиотерапии, которая исследует явления избирательной токсичности в тех случаях, когда вредные структуры представляют собой организмы, совершенно отличные от полезных.

Перед фармакодинамикой стоит множество сложнейших проблем, которые в области химиотерапии не возникают.

Прежде всего фармакодинамическое действие должно быть, как правило, обратимым. Так, если больной находится под наркозом, то ни в коем случае не предполагается оставлять его в таком состоянии навсегда. В химиотерапии, наоборот, наиболее ценен тот токсический агент, действие которого является в максимальной степени необратимым.

Далее, фармакодинамические средства должны вызывать градуальную реакцию. Так, например, для снятия спазмов или подавления избыточной секреторной активности применяется по возможности точно дозированное в зависимости от степени наблюдаемого нарушения количество лекарственного вещества с тем, чтобы снять нежелательные эффекты без утраты соответствующей функции. Альтернативный эффект по типу «все или ничего», требуемый от химиотерапевтических средств, с точки зрения фармакодинамики неприемлем.

И, наконец, исследователь, работающий в области фармакодинамики, встречается со значительными затруднениями при выборе биологического экспериментального материала, так как получить его в однородном состоянии и в достаточных количествах нелегко.

При решении задач, связанных с проблемами избирательной токсичности, лучше всего начинать с наиболее простой системы: токсический агент и популяция однородных клеток, на которую этот агент воздействует. После того как основные взаимоотношения в этой системе исследованы с исчерпывающей полнотой, можно постепенно усложнять условия опыта, вводя в эксперимент дополнительные естественные факторы, с тем чтобы в конечном счете прийти к решению практических задач. Так, от опытов с популяциями однородных клеток можно переходить к опытам с тканями, в которых содержатся эти клетки, затем к опытам с органами и, наконец, с целостным организмом растения или животного.

Однако уже в самом начале исследователь сталкивается с затруднениями, так как зачастую получение популяций однородных неповрежденных живых клеток оказывается практически неосуществимым. В тех же случаях, когда исследуются механизмы взаимодействия *между различными видами клеток*, например в синапсе, дело еще более осложняется в связи с тем, что в экспериментальных объектах нередко содержатся многочисленные посторонние клетки, которые служат «местами потерь» (гл. 2, разд. 3). Поэтому достаточно достоверные количественные характеристики получить трудно. Время от времени происходят события, которые можно расценивать как шаг вперед на пути к идеалу, о котором мечтал Кларк — к «клеточной



фармакологии». В большинстве же случаев в настоящее время работа проводится на перфузируемых органах или даже на интактных животных.

Что касается специалистов по химиотерапии, то и для них фармакодинамика отнюдь не является чуждой областью. Ведь даже такие практически нетоксичные соединения, как пиперазин и пенициллин, действие которых не сопровождается обычно побочными эффектами, также следует рассматривать как фармакодинамические агенты, поскольку и здесь существует проблема причин и механизмов избирательности токсического действия, равно как и необходимость выяснения благоприятных условий распределения.

### *1. История развития исследований по изысканию новых синтетических лекарственных средств*

Фармакодинамические средства использовались еще в те далекие времена, когда люди жили племенами. Однако даже из тех лекарственных средств, которые были известны в эпохи великих цивилизаций античности, лишь немногие могли бы найти применение в настоящее время (это главным образом опиум, спорынья и белладонна). Прагматический характер бокоинанской философии способствовал, в частности, появлению в XVII в. фармакопей — книг, содержащих перечень наиболее важных лекарственных средств и установленных для них стандартов. Одной из первых была Лондонская фармакопея, вышедшая в свет в 1618 г. Кроме нескольких действительно ценных средств, которые используются и в настоящее время, в ней содержались и такие вполне никчемные, как собачий жир, жир из угрей, аистов и ежей, экскременты различных животных и камни, извлеченные из желчного пузыря больных людей. После того как Сертюрнер в 1803 г. впервые выделил алкалоид (морфин), внимание исследователей было привлечено к перспективам, которые сулит возможность выделения в чистом виде активных веществ из животных и растительных тканей, в которых они содержатся. Так, в 1831 г. из белладонны был выделен атропин.

Поначалу химический синтез не представлялся достаточно перспективным методом получения лекарственных веществ. Однако после того, как Вёлер в 1828 г. синтезировал мочевины и органическая химия стала успешно развиваться, в медицинскую практику постепенно вошло очень много синтетических лекарственных препаратов. После ряда неудач были найдены (например, Мортонем в 1846 г.) простые по структуре соединения, нашедшие применение в практике ингаляционного наркоза, оказавшиеся чрезвычайно ценными для хирургии. Перспективы, которые открывала возможность использования наркотических средств в терапии, были обнаружены сначала на людях, но очень скоро выяснилось, что наблюдаемые на людях эффекты можно воспроизводить на животных. Это радикально изменило методы изыскания новых эффективных обезболивающих препаратов. Для испытаний на людях стали отбирать только те вещества, которые в опытах на лабораторных животных обнаруживали максимальную активность и отсутствие нежелательных побочных эффектов. Таким образом была выработана методика, которая и до настоящего времени используется при изыскании новых лекарственных средств.

В период между 1860 и 1905 гг. интенсивно проводились поиски среди синтетических органических соединений спящих животных лекарственных средств, т. е. соединений, способных вызывать сон у больных, находящихся в возбужденном состоянии. Первые спящие представляли собой сравнительно простые по структуре вещества, например хлоралгидрат [911], паральдегид [298]; в дальнейшем стали постепенно появляться все более сложные по структуре соединения и, наконец, был создан барбитал (веронал) [519]. Ассортимент седативных средств по необходимости ограничи-

вался возможностями органической химии, в то время слабо развитой. Можно наглядно убедиться в том, сколь ограниченными были эти возможности, если сравнить их с современным набором специфично действующих транквилизаторов и противосудорожных средств (гл. 14, разд. 1). В процессе поисков синтетических лекарственных веществ, способных снижать температуру тела (в этих поисках, оказавшихся в конечном счете несостоятельными, отдаленной моделью служила молекула хицина), была создана целая группа мягких анальгезирующих средств, таких, как ацетанилид [276] и антипирин или феназон [834]. В 1875—1876 гг. в медицинскую практику был введен салицилат натрия, обладающий, помимо анальгезирующего, еще и противоревматическим действием, а также аспирин [442].

Первое из местноанестезирующих средств, алкалоид кокаин, было предложено Коллером в 1884 г. К этому времени была уже осознана целесообразность получения аналогов природных соединений с упрощенной структурой (разд. 5 настоящей главы) и в 1905 г. впервые был получен синтетический местноанестезирующий препарат [470], известный под названием прокаина, или новокаина, выгодно отличавшийся от кокаина по ряду свойств.

В гл. 3, разд. 1 мы уже говорили о том стимулирующем влиянии, которое эти открытия в области фармакодинамики оказали на Эрлиха. Он увлекся поисками таких же простых по структуре химических соединений, которые были бы пригодны для лечения инфекционных заболеваний, и это привело его к созданию концепции химиотерапии. В последующие за этим 50 лет успехи в области химиотерапии значительно превосходили все, что делалось в области фармакодинамики. Главные причины столь быстрого прогресса изложены в начале этого раздела. В общем можно сказать, что из двух этих разделов фармакологии фармакодинамика представляет собой область значительно более сложную, нежели химиотерапия. К счастью, быстрое развитие количественных методов позволяет надеяться на новые успехи в этой области. В настоящее время фармакодинамика приобретает особое значение в связи с тем, что в экономически развитых странах большинство неизлечимых болезней относится к категории неинфекционных (гл. 1, введение).

## 2. Значение количественных оценок

Стандартизация экспериментальных методов и строгое применение статистики при оценке результатов определили успешное развитие фармакодинамики в течение двух последних десятилетий [552]. Методика постановки опытов на лабораторных животных с использованием экспериментальных и контрольных групп была перенесена на исследования, которые проводились на людях. Это позволило достоверно оценить эффективность и побочное действие многих лекарственных веществ. Полезными в этом смысле оказались и опыты по сравнению с действием уже известных лекарственных препаратов.

Кларк [318] первым обратил внимание исследователей на необходимость соотносываться с относительными размерами биологических объектов, на которых ставятся эксперименты. Отправным пунктом в развитии этих представлений может послужить мнемоническая диаграмма, изображенная на фиг. 3. Напомним, что длина полностью растянутой молекулы мышечного белка составляет около 8 мкм, а длина мышечной клетки — около 60 мкм. Если построить молекулярную модель какого-нибудь обычного фармакодинамического лекарственного вещества с молекулярным весом 150—300 из шариков (масштаб обычный: 0,1 мкм соответствует 1 см), то окажется, что длина такой молекулы будет равна примерно 5 см, длина молекулы белка — 9 м, а размеры мышечной клетки составят 5,6 мкм в длину и 183 мкм в ширину. Сравнивая между собой все эти величины, легко представить

себе, какое множество бесполезных столкновений должно произойти, прежде чем молекула лекарственного вещества попадет на нужный рецептор и как велика вероятность попадания в «места потерь» (определение этого понятия см. в гл. 2, разд. 3). И тем не менее молекулы лекарственного вещества, при условии, что оно достаточно специфично, в конце концов достигают рецептора и связываются с ним. В благоприятных случаях соединение с рецептором возможно для лекарственного вещества даже в разведении  $10^{-9}$  М; при такой концентрации вещества его даже не удастся обнаружить в пробирке обычными химическими методами.

Следует принимать во внимание и то обстоятельство, что в 1 мкг лекарственного вещества содержится огромное число молекул (а именно  $3 \cdot 10^{15}$ , если молекулярный вес равен около 200). А между тем, для того чтобы полностью покрыть поверхность стафилококка, которая составляет приблизительно  $2 \text{ мк}^2$ , требуется всего 4 млн. молекул. Однако не это имеет определяющее значение для фармакодинамического действия. Для того чтобы с помощью ацетилхолина, адреналина или гистамина вызвать заметное подавление активности сердца лягушки, желудка лягушки или матки крысы (соответственно), достаточно, чтобы в каждом из этих органов абсорбировалось около  $10^{14}$  молекул гормона на 1 г сырого веса ткани. Этого количества хватило бы только на то, чтобы покрыть  $1 \text{ см}^2$  поверхности, тогда как поверхность всех клеток, содержащихся в 1 г ткани сердца лягушки, составляет около  $6000 \text{ см}^2$ . Отсюда следует, что эти вещества активны в количествах, достаточных для того, чтобы покрыть  $1/6000$  поверхности. Таким образом, гормоны взаимодействуют с определенными рецепторами, которые составляют лишь незначительную часть всей поверхности клетки [318].

При оценке различных данных удобно пользоваться простыми расчетами и особенно сопоставлять размеры молекул лекарственного вещества с размерами различных участков экспериментального объекта. Так, например, минимальная эффективная концентрация ацетилхолина, как было обнаружено в опытах на сердце лягушки, составляет  $5 \cdot 10^{-19}$  М (в 1 мл такого раствора содержится всего 330 молекул). Создатель гомеопатии Ганеман утверждал, что лекарственное вещество действует и в разведении  $1 \cdot 10^{-60}$  (это эквивалентно тому, как если бы в сфере диаметром, равным диаметру орбиты Нептуна, находилась 1 молекула вещества [320]).

Каким образом усовершенствовать условия проведения эксперимента, с тем чтобы уменьшить потери лекарственного вещества, можно показать на следующем примере: до недавнего времени нервно-мышечные соединения изучались на изолированных нервно-мышечных препаратах, которые содержали большое число весьма неоднородных нервных и мышечных клеток, а также посторонние структуры. В 1957 г. было обнаружено, что с помощью электрофореза можно направлять лекарственный препарат прямо на двигательную концевую пластинку портняжной мышцы лягушки. Такое строго локальное нанесение ацетилхолина вызывало кратковременные изменения потенциалов в несколько милливольт [295]. Эта модель оправдала себя в опытах по исследованию зависимости между структурой лекарственного вещества и его действием на нервно-мышечное соединение.

Усовершенствования в количественных методах дают возможность получать новые сведения о взаимозависимости структуры лекарственного вещества и его действия. Так, например, в 1956 г. Никерсон [1054] предложил использовать дибенамин (11.16) для определения количества незанятых катехоламиновых рецепторов. Вскоре было обнаружено, что, работая с правильно подобранными препаратами, с помощью дибенамина можно определять также и резервные рецепторы для ацетилхолина и гистамина [1231]. Недавно было высказано предположение, что определяемые во всех трех случаях резервные рецепторы представляют собой субстрат фермента (по всей вероятности, это АТФ) [192].

### 3. Гипотезы о механизме действия лекарственных препаратов

Понятие «рецептор» было сформулировано в гл. 2, разд. 1. Для большинства химиотерапевтических агентов вполне можно принять, что наблюдаемая физиологическая реакция следует непосредственно за адсорбцией агента на рецепторе и длится до тех пор, пока агент остается на рецепторе. Такая трактовка применима и к действию фармакодинамических агентов. Известно, например, что механизм действия фосфорорганических соединений состоит в их способности ингибировать определенные ферменты, причем в ряде случаев удавалось выяснить, с каким именно атомом такого фермента ковалентно связывается лекарственное вещество (гл. 10, разд. 3). Чаще всего, однако, связь эта не является ковалентной; тогда она осуществляется в соответствии с законом действия масс и описывается теми же уравнениями,



Фиг. 28. Схематическое изображение центральной нервной системы и произвольной мускулатуры.

Показан эфферентный нерв и нервно-мышечное соединение. 1 — головной мозг; 2 — спинной мозг; 3 — нервное волокно, иннервирующее произвольную мышцу; 4 — нервно-мышечное соединение.

которые характеризуют изотермы адсорбции Ленгмюра (гл. 5, разд. 2, а также [550]). Во всех этих случаях интенсивность реакции ткани зависит, по-видимому, от того, какая доля специфических рецепторных групп занята лекарственным веществом. Такое толкование механизма действия лекарственных веществ известно под названием *простой оккупационной теории*. Действие большинства ингибиторов очень хорошо объясняется этой теорией.

Не так просто, однако, обстоит дело со стимуляторами. Оказалось, что стимуляторы должны иметь структуру, значительно более специфичную, нежели это характерно для молекул антагонистов. В большинстве случаев стимуляторы представляют собой либо природные соединения, либо синтетические соединения, имитирующие действие природных благодаря структурному сходству с ними. Существуют стимуляторы, активность которых связана с их способностью защищать соответствующие природные вещества от разрушения или высвободить их из соответствующих депо. Так, тирамин способствует выделению норадреналина (разд. 6 настоящей главы). Механизм действия подобных веществ сложен, и для его объяснения было выдвинуто несколько гипотез, которые мы обсудим несколько позже. Рецепторы стимуляторов напоминают ферменты, поскольку они обладают известной специфичностью, однако в результате взаимодействия с рецепторами лекарственные вещества не изменяются.

Из всех известных фармакодинамических агентов около 80% действуют только на нервы или мышцы. В связи с этим рассмотрению этих веществ следует предпослать краткие сведения о распространении импульса по нерву и через синапсы (фиг. 28).

Из катионов в клетках содержится главным образом  $K^+$ , а  $Na^+$  находится снаружи. Благодаря различию в концентрации ионов по обе стороны плазматической мембраны в нервных и мышечных клетках обычно

создается потенциал величиной от 50 до 100 мв — «потенциал покоя». Мембрана, таким образом, представляет собой как бы миниатюрную батарею с отрицательным полюсом внутри. Когда такая батарея теряет свой потенциал, говорят, что она разрядилась (деполяризация). Мембрана представляет собой липопротеидную перегородку, через которую возможен активный транспорт (гл. 2, разд. 2) в обоих направлениях.

Распространение нервного импульса по нервному волокну — это сложный физико-химический процесс, связанный с деполяризацией нервного окончания либо в самой нервной системе (для двигательного волокна), либо в одном из органов чувств (для сенсорного волокна). Это изменение потенциала вызывает временное увеличение проницаемости мембраны для ионов натрия, которые быстро поступают в нервное волокно, что влечет за собой реверсию потенциала покоя в мембране<sup>1</sup>. Вслед за этим немедленно происходит кратковременное повышение проницаемости мембраны для ионов калия, которые выходят из нервного волокна, и таким образом мембранный потенциал восстанавливается. Эти последовательно текущие процессы разыгрываются на очень небольшом участке, но вызванный ими поток ионов деполяризует соседний участок мембраны, в котором происходит последовательно те же изменения. Таким образом, получается, что импульс, который по существу представляет собой преходящее изменение мембранного потенциала, распространяется по волокну со скоростью, которая зависит от диаметра волокна. Скорость проведения импульса по волокну варьирует от 0,1 до 100 м/сек [698, 699].

Одиночный нервный импульс вызывает внутри клетки лишь небольшое увеличение соотношения  $Na^+ : K^+$ . Однако нормальное соотношение ионов натрия и калия постепенно восстанавливается без изменения потенциала покоя за счет медленно протекающего процесса транспорта ионов, сопровождающегося поглощением энергии (гл. 2, разд. 2); это явление часто называют натриевым или соответственно калиевым насосом [700].

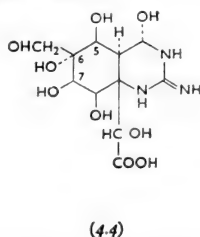
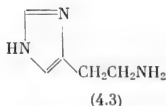
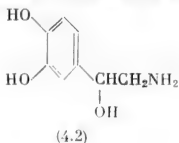
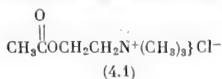
Не все факторы, участвующие в проведении нервного импульса, выяснены. Известно, например, что ионы кальция обеспечивают целостность мембран. Предполагается, что в нормальных условиях они препятствуют прохождению ионов натрия. Дополнительно о роли кальция см. гл. 9, разд. 1, а о «гипотезе целостности и восстановления» — в работе Тобниаса [1427].

Теперь мы рассмотрим очень важное явление, механизм которого еще мало понятен. Описанный выше транспорт катионов сопровождается потреблением значительного количества энергии, непосредственным источником которой служит АТФ (11.18) [713]. По-видимому, поставляет эту энергию какой-то субстрат (например, глюкоза). Во всяком случае в немембранизированном нервном волокне прохождение каждого импульса сопровождается выделением довольно большого количества тепла [1]. Эти факторы (среди прочих) способствуют «выкачиванию» натрия, в результате чего в клетке в состоянии покоя ионов натрия почти не остается. Для функционирования этого натриевого насоса клетка нуждается в АТФ и источнике энергии.

Как только нервный импульс достигает синапса, происходит выделение очень малых количеств химического вещества, которое называется *синаптическим медиатором* [392]. Этот медиатор представляет собой гормон местного действия. Он диффундирует через синаптическую щель и вступает

<sup>1</sup> Указанное выше быстрое проникновение ионов натрия может быть избирательно приостановлено тетродотоксином [(4.4); тетродотоксин — это ортоэфир, образуемый кислотной группой с 5- и 7-оксигруппами], который получают из яичников японского факха. Из-за отсутствия ионов натрия потенциал действия не возникает и вследствие этого проведение импульса как в нерве, так и в мышце становится невозможным. Передача импульса в синапсах не нарушается, так что млекопитающие погибают исключительно вследствие периферических проявлений токсичности, в частности от периферического паралича дыхания [1035]. На движение ионов калия тетродотоксин не влияет. О химических свойствах тетродотоксина см. [596], общий обзор на эту тему — [798].

во взаимодействие с рецептором в постсинаптической мембране мышечной или нервной клетки. Предполагается, что медиатор быстро разрушается специфическим ферментом, так что восстанавливается исходное состояние покоя: синапс готов к приему нового импульса. Наиболее известные медиаторы — ацетилхолин (4.1) и норадреналин (4.2), но существуют, возможно, и другие медиаторы, особенно в центральной нервной системе.



Рассмотрим прежде всего, что происходит в нервно-мышечном соединении (фиг. 28) в момент прихода нервного импульса. Строение нервно-мышечного соединения, установленное ранее с помощью светового микроскопа, еще более подробно изучено методом электронной микроскопии [176, 805]. Типичный пример — соединение нерва с портняжной мышцей лягушки, в котором нервное окончание образует тончайшие веточки (общей длиной около 1 мкм), располагающиеся в канавках мышечного волокна. Нерв и мышца отделены друг от друга *синаптической щелью* (шириной около 100 Å). Обычно именно эта часть мышцы (*концевая пластинка*) чувствительна к действию ацетилхолина. Предполагают, что ацетилхолин хранится в пресинаптических окончаниях, в синаптических пузырьках, диаметр которых составляет около 200—500 Å. У лягушки в каждом нервно-мышечном соединении присутствует около 3 млн. пузырьков.

В нервно-мышечном соединении ацетилхолин вступает во взаимодействие с рецепторами концевой пластинки. Следующая за этим деполяризация вызывает появление потенциала действия, который очень похож на нервный импульс (см. выше). При этом положительный заряд снаружи временно исчезает, ионы натрия устремляются внутрь и мышца сокращается. Затем происходит разрушение ацетилхолина холинэстеразой, которая также содержится в концевой пластинке, но отдельно от рецепторов [996, 1495]. Весь этот процесс протекает за несколько миллисекунд. Его можно воспроизвести, вводя ацетилхолин непосредственно в область концевой пластинки. При введении ацетилхолина непосредственно внутрь мышечной клетки ни деполяризации, ни сокращения мышцы не происходит [294].

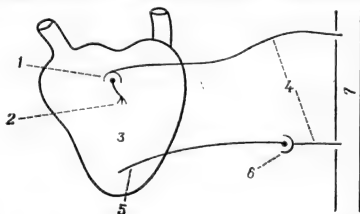
Количество ацетилхолина, выделяющееся в нервном окончании на один импульс (в опытах на кошке и крысах), составляет  $1,5 \cdot 10^{-10}$  мкг. Это эквивалентно  $5 \cdot 10^6$  молекул ацетилхолина, т. е. в 200 раз больше, чем необходимо для деполяризации концевой пластинки [854]. В то же время в нервно-мышечном соединении содержится достаточно ацетилхолинэстеразы для расщепления  $10^9$  молекул медиатора за 1 сек. Константа диссоциации комплекса, образуемого ацетилхолином и разрушающим его ферментом, составляет  $2,6 \cdot 10^{-4}$  [1034].

Таким образом, мышечная концевая пластинка представляет собой *химически возбудимую мембрану* в отличие от *электрически возбудимой* мембраны, покрывающей каждое нервное волокно (см. выше). Проводимость (т. е. проницаемость для ионов) химически возбудимой мембраны изменяется только под влиянием специфического химического агента (синаптиче-

ского медиатора), а не в результате деполяризации. Эти колебания ионной проводимости вызывают в мембране изменения потенциала, пропорциональные концентрации медиатора.

Ацетилхолин служит медиатором не только в нервно-мышечном соединении, но и в других системах, например во всех автономных ганглиях (симпатических и парасимпатических), в органах, имеющих парасимпатическую иннервацию и, наконец, в некоторых синапсах центральной нервной системы. Гипотеза, согласно которой ацетилхолин выполняет функции медиатора *в самих* нервных клетках [1034], не получила широкого распространения.

В органах, получающих симпатическую иннервацию, роль медиатора играет обычно норадреналин. В некоторых случаях дело происходит таким образом, что преганглионарные нервные окончания выделяют не норадреналин, а ацетилхолин, который сразу же высвобождает из соответствующего местного депо норадреналин, стимулирующий иннервируемые органы [265].



Фиг. 29. Примеры, иллюстрирующие регуляторную функцию автономной нервной системы.

Ганглии представляют собой схождения нервов. 1 — парасимпатический ганглий; 2 — постганглионарное нервное окончание (холинергическое); 3 — сердце; 4 — преганглионарное волокно; 5 — постганглионарное нервное окончание (адренергическое); 6 — симпатический ганглий; 7 — спинной мозг.

Гистамин (4.3) и адреналин [N-метильное производное соединения (4.2)] представляют собой тканевые гормоны, а не синаптические медиаторы.

На фиг. 29 изображены элементы анатомической структуры автономной нервной системы, которая отличается от соматической нервной системы (фиг. 28) тем, что содержит в каждом волокне по одному лишнему элементу — это синапс, расположенный в ганглии. Симпатические ганглии располагаются неподалеку от спинного мозга, а парасимпатические — вблизи иннервируемого органа. Как уже указывалось выше, все подобные ганглионарные синапсы активируются ацетилхолином. В постганглионарных нервных окончаниях парасимпатических волокон в передаче импульса участвует ацетилхолин, а в симпатических — норадреналин.

**Искусственные мембраны.** Столь характерные свойства электрически возбудимых мембран привлекли к себе внимание многих исследователей, пытавшихся изготовить искусственные мембраны с аналогичными особенностями. Удавалось получить тонкую пленку, толщиной в несколько молекул, если поместить раствор смеси липидов и белка в отверстие чашечки из тетрафторэтилена (тефлона). На этой модели (пленка, располагающаяся между двумя водными слоями) изучают и потенциалы действия, и одиночные спайки, и повторяющуюся ритмическую активность. Однако отличать  $\text{Na}^+$  от  $\text{K}^+$  она оказалась неспособной [1029]. Была изготовлена из лецитина более простая пленка толщиной в две молекулы (70 Å), обладающая некоторой электрической возбудимостью [1030]. Для исследования влияния стероидов на транспорт катионов натрия и калия против градиента concentra-

ции были получены мембраны сходного типа. Оказалось, что транспорт катионов через такую мембрану задерживается, но дифференциация между катионами отсутствует [104]. Создание более совершенных мембран связано с необходимостью включения в их состав АТФ и катиона двухвалентного металла. Эти требования были сформулированы Маасом и Колберном [938], которые установили методами потенциометрии на модельных системах, что прохождение нервного импульса через мембрану сопровождается гидролизом АТФ под действием аденозинтрифосфатазы. Эти авторы предполагают, что в результате гидролиза нормальная мембрана, имеющая структуру типа «вода в масле», превращается в неустойчивую систему типа «масло в воде», а после прохождения импульса АТФ, синтезируемый в клетке, восстанавливает мембрану типа «вода в масле», а следовательно, и состояние покоя. Эта гипотеза достаточно хорошо согласуется с химией поверхностных явлений, но многое еще подлежит сделать, для того чтобы привести ее в соответствие с тем, что известно о физиологических явлениях.

Искусственные мембраны, не содержащие липидов, можно изготавливать из полиэлектролитов, например из нерастворимой кальциевой соли полиакриловой кислоты. Если такую мембрану поместить в поле постоянного тока, она генерирует спайки с амплитудами и временными константами, подобными тем, которые характерны для мембран нервных клеток [1305].

Вообще говоря, возбудимость характерна для большинства природных мембран, хотя степень этой возбудимости у всех мембран, кроме мембран нервных и мышечных клеток, очень мала. Использование техники введения в клетку микроэлектродов позволило показать, что клетки печени образуют упорядоченную ткань благодаря способности «распознавать» друг друга. В клетках злокачественных опухолей подобный механизм обратной связи утрачен [922].

*Главные гипотезы о механизме действия.* После несколько затянувшегося изложения всех этих основных сведений можно приступить к характеристике главных гипотез механизма действия. Кларк [319] в своих классических работах основывался на использовании изотермы адсорбции Ленгмюра (гл. 5, разд. 2) для оценки результатов экспериментальных исследований. В соответствии с этой гипотезой предполагается, что эффект, вызванный лекарственным веществом, пропорционален величине поверхности рецепторов, занятой молекулами этого вещества; максимальный эффект наблюдается только в тех случаях, когда все рецепторы заняты лекарственным веществом. Для толкования действия ингибиторов (имеющих важное значение в химиотерапии и в сельскохозяйственной практике) эта так называемая «простая оккупационная теория» оказалась вполне пригодной. Однако в применении к физиологически активным лекарственным агентам, которые вызывают положительную реакцию, она несостоятельна. К числу таких агентов относятся синаптический медиатор ацетилхолин и бесчисленное множество других соединений, молекулы которых представляют собой различные варианты структуры ацетилхолина. Вещества подобного типа стали называть *агонистами* [1188], имея в виду противопоставить их антагонистам. Итак, агонист — это агент, вызывающий естественную физиологическую реакцию. Агонисты обладают обычно способностью оказывать стимулирующее действие (например, ацетилхолин в нервно-мышечном соединении), но в некоторых случаях они действуют как ингибиторы (например, ацетилхолин в постганглионарных нервных окончаниях в сердечной мышце).

В 1954 г. Ариенс [74] обратил внимание на некоторые уязвимые пункты простой оккупационной теории. Он отметил, что некоторые малоактивные лекарственные вещества (деполяризующего типа), вызывающие нервно-мышечный блок, способны подавлять действие более активных аналогов.



Ариенс выдвинул предположение, что лекарственное вещество обладает двумя независимыми характеристиками: *сродством* к рецептору и *внутренней активностью* или собственно активностью. Для действия ингибиторов (будь то химиотерапевтический агент, инсектицид или фунгицид) достаточно только сродства к рецептору, тогда как для многих фармакодинамических агентов необходимо, чтобы, кроме сродства к рецептору, они обладали еще и внутренней активностью, т. е. способностью вызывать естественную физиологическую реакцию сразу после того, как происходит взаимодействие между ними и рецепторами. Под сродством в случае стимуляторов подразумевают степень их притяжения к рецепторам, иначе говоря, это величина, обратная константе диссоциации комплекса стимулятор — рецептор. Что касается внутренней активности лекарственного вещества, то она является мерой способности такого комплекса вызывать положительную биологическую реакцию и выражается интенсивностью суммарной биологической реакции, в которой представлен каждый из активных участков, составляющих все рецепторы [74].

Кривая доза — эффект и для лекарственного вещества, и для рецептора описывается уравнением первого порядка. Следует отметить, что между экспериментальными и теоретическими кривыми часто наблюдается хорошее совпадение [77]. Ариенс сопоставлял значения внутренней активности различных нервно-мышечных лекарственных средств депонизирующего действия. Для этой цели он строил графики зависимости степени контрактуры мышцы от концентрации лекарственного препарата. Было обнаружено, что максимальный эффект (т. е. такой, который уже не увеличивается при дальнейшем повышении концентрации) для одних лекарственных соединений оказывается значительно менее выраженным, чем для других (соответствующие кривые часто имеют вид гиперболы, подобной тем, которые изображены на фиг. 30). Дозу, вызывающую максимальный эффект, Ариенс рассматривал как меру сродства лекарственного вещества к рецептору.

Вначале Ариенс предполагал, что внутренняя активность может быть выражена с помощью константы  $k'''$ , характеризующей превращение комплекса фермент — субстрат в продукты реакции [см. уравнение (6), гл. 6, разд. 1]. Поскольку лекарственное вещество после взаимодействия с рецептором остается неизменным, предполагалось, что оно способно катализировать расщепление комплекса рецептор — субстрат и что именно это расщепление инициирует биологическую реакцию. Таким образом, лекарственное вещество рассматривалось как своего рода эквивалент кофактора в химии ферментов [1516]. Эта концепция в течение многих лет оставалась непризнанной, но в настоящее время вновь привлекла к себе внимание [192]. Черты сходства с этой концепцией можно найти и в другой гипотезе, по которой агонист открывает проход в мембране, окружающей рецептор, а антагонист закрывает его, подобно тому, как, согласно гипотезе Левина, действует инсулин, который открывает проходы через мембраны, обычно закрытые для глюкозы [904].

«Сложная оккупационная теория», предложенная Ариенсом, получила дальнейшее развитие в работах Стефенсона [1373]. Рассматривая новые данные о действии ацетилхолина и гистамина на подвздошную кишку морской свинки, он обнаружил, что наклон кривой концентрации — эффект не соответствует тому, чего следовало бы ожидать, исходя из простой оккупационной теории. Иными словами, оказалось, что активность не пропорциональна числу занятых лекарственным агентом рецепторов. Стефенсон был вынужден сделать из этого следующие выводы: а) максимальный эффект может достигаться и тогда, когда лекарственное вещество занимает лишь весьма небольшую (даже ничтожную) часть доступных рецепторов; б) интенсивность биологической реакции *нелинейно зависит* от числа занятых рецепторов и в) лекарственные вещества различаются по своей способности вызы-

вать ответную реакцию, и потому реакция одинаковой интенсивности будет наблюдаться, в зависимости от соединения, при различном числе занятых рецепторов. Это свойство лекарственных агентов Стефенсон назвал *эффективностью*. Лекарственное вещество, которое дает *максимальную* для данного органа ответную реакцию при очень малом числе занятых рецепторов, квалифицируется как высокоэффективное.

Стефенсон безоговорочно принял концепцию Ариенса о родстве, а между концепцией внутренней активности и концепцией эффективности имеется некоторое общее сходство, однако концепция Стефенсона лучше обоснована (в частности, она подкреплена сложными расчетами). Одним из параметров эффективности служит, к примеру, доза. В каждом гомологическом ряду для всех более или менее эффективных соединений достигается *максимальная* активность в соответствующем органе, но при разной дозе. Существовавшее ранее разделение лекарственных веществ на два класса, агонистов и антагонистов, Стефенсон дополнил, введя еще один, третий, класс — частичных агонистов. Это вещества, обнаруживающие умеренную эффективность при высоком средстве к рецепторам. Таким образом, сами по себе «частичные» агонисты могут вызывать в соответствующем органе лишь слабую реакцию, но способны помешать агонисту полностью реализовать свое действие. В табл. 14 показано, как эффективность и средство варьируют в гомологическом ряду. Следует, однако, отметить, что мы все еще не располагаем сведениями об эффективности многих фармакодинамических средств, так как очень часто подобный анализ оказывается невозможным из-за отсутствия соответствующего биологического материала.

Таблица 14

**Эффективность и средство**  
(сравнение активности ионов алкилтриметиламмония,  
опыты на подвздошной кишке морской свинки [1373])

Алкильная группа	Me	Et	Pr	Bu	Pent	Hex	Hept	Oct	Non	Dec
Эффективность	94	31	4,3	200	200	21	2,2	1,4	1,0	0,6
Средство ( $\cdot 10^{-3}$ )	0,2	0,6	1,6	3,8	8,5	19	41	63	110	190

Широко распространенная концепция «незанятых рецепторов» (речь идет о рецепторах, которые остаются свободными, когда данное лекарственное вещество обнаруживает максимум активности) явилась логическим развитием исследований Стефенсона. Смысл понятия «внутренняя активность» со временем изменился и стал означать нечто более близкое к понятию «эффективность» [1231].

Зная величины свободной энергии взаимодействия ионов, можно вычислить расстояние между центрами двух зарядов в состоянии равновесия. Дело в том, что свободная энергия численно равна той работе, которую надо затратить, для того чтобы удалить единичный заряд от другого заряда на бесконечно большое расстояние. Вычислить ее можно по уравнению Кулона [1161]. Так, Берген [258] рассчитал, что в состоянии равновесия расстояние между четвертичным атомом азота в молекуле ацетилхолина и отрицательно заряженной группой рецептора составляет 3,29 Å. Расчет был основан на различиях в значениях свободной энергии (получены в опытах на подвздошной кишке морской свинки) взаимодействия для ацетилхолина (4.1) и диметилбутилацетата (11.24). Он показал также, что катионный центр ацетилхолина и его аналогов, обладающих сходной активностью, вступает с рецептором в более тесный контакт, чем химически родственные

им антагонисты (по-видимому, в связи с тем, что в последнем случае более сильные вандерваальсовы связи «хвоста» сдвигают положение «катионной головы»). Таким образом, можно было предположить, что отличие агонистов от антагонистов коренится в более тесной связи агонистов с рецепторами, отсюда и в их способности вызывать в них конформационные изменения. Аналогичные исследования и расчеты были проделаны Белло [147]. Ниже описываются сходные явления, относящиеся уже к области энзимологии.

Целлер [1603], исследуя скорость окисления *о*-, *м*- и *п*-замещенных бензиламина под действием моноаминоксидазы, пришел к выводу, что эти субстраты образуют с ферментом два типа комплексов — *эутопические* и *дистопические* комплексы. Дистопические комплексы образуются при участии активных центров молекул фермента, но их общая конфигурация такова, что действие на них фермента невозможно. Исследование кинетики этих реакций обнаружило, что для наиболее легко трансформируемых субстратов отношение числа эутопических комплексов к дистопическим велико; для ингибиторов, сходных по химической структуре с субстратом, это отношение имеет обратное значение. Выяснилось также, что производные бензиламина, содержащие заместители в *м*-положении, служат лучшими субстратами, чем изомерные им *п*- и *о*-замещенные, независимо от того, какое влияние на распределение электронов в остальной части молекулы оказывают эти заместители. Отсюда следует, что в данном случае стерические влияния — решающие. Некоторые из описанных выше свойств рецепторов целесообразнее характеризовать новыми терминами, введенными в употребление Целлером. Так, например, можно сказать, что ионы алкилтриметиламмония (табл. 14) способны образовывать с рецептором преимущественно эутопические комбинации при R с числом атомов углерода не более пяти. При R, содержащем более пяти атомов углерода, возникают главным образом дистопические комбинации. По существу это та же теория Бергена (см. выше), но изложенная другими словами.

Совершенно отлична от всех предидущих гипотеза о действии лекарственных веществ, принадлежащая Пейтону [1101]. Согласно этой гипотезе, интенсивность возбуждения или другой какой-нибудь биологической реакции, вызванной агонистом, пропорциональна скорости взаимодействия лекарственного вещества (агониста) с рецептором и не зависит от степени насыщения рецепторов. Эти выводы основывались на результатах тщательных кинетических исследований, выполненных автором, который изучал действие гистамина, ацетилхолина и подобных им стимуляторов на изолированную подвздошную кишку морской свинки. Пейтон в этих своих работах пытался получить ответ на следующие вопросы: 1) отчего данный рецептор стимулируется под влиянием одного какого-нибудь лекарственного вещества и блокируется другим; 2) почему некоторые лекарственные вещества обладают способностью сначала стимулировать рецепторы, а затем их блокировать; 3) почему многие из стимуляторов обнаруживают тахифилаксическое действие, т. е. в момент соприкосновения с рецептором дают максимальный эффект, а затем активность этих соединений падает иногда до нуля.

Вполне удовлетворительный ответ на первый из этих вопросов может дать и оккупационная теория: по Пейтону же, все зависит от скорости диссоциации. Если лекарственное вещество не задерживается долго на рецепторе, то оно является стимулятором; если же комплекс лекарственного вещества — рецептор диссоциирует медленно, то вещество является антагонистом. Хорошо известно, что стимуляторы типа ацетилхолина, адреналина или гистамина (4.3) легко вымываются из тканей (фиг. 21); в то же время отнять лекарственное вещество — антагонист значительно труднее. Хорошо также известно, что способность оказывать антагонистическое действие возрастает по мере увеличения молекулярного веса. Антагонист всегда

объемнее соответствующего стимулятора, и совершенно очевидно, что возможности образования дополнительных связей за счет сил Ван-дер-Ваальса у него больше; поэтому и связь такой крупной молекулы с рецептором прочнее (гл. 5, разд. 1 и 2 и гл. 8, разд. 3, б).

Второй вопрос относится к веществам, которые сначала вызывают стимуляцию, после чего наблюдается ослабление эффекта их действия и длительная депрессия. Действие никотина на ганглии может служить классическим, но далеко не единственным примером такого явления. Среди симпатомиметических аминов встречаются вещества, обладающие сильным стимулирующим действием, которому сопутствует слабо выраженная тенденция к тахифилаксии (например, эфедрин); встречаются также соединения, которые способны оказывать последовательно — сначала сильное стимулирующее, а затем — антагонистическое действие (например, эрготамин); и, наконец, встречаются лекарственные вещества (например, феноталамин), обладающие едва заметной способностью вызывать возбуждение, за которым следует длительный период депрессии. Кроме того, исследования, проведенные на нервно-мышечном препарате, позволили обнаружить в ряду парасимпатомиметических лекарственных средств последовательное изменение свойств, сопутствующее постепенному усложнению молекулярной структуры, — от веществ, являющихся выраженными стимуляторами и слабыми антагонистами, к соединениям, способным последовательно выступать сначала в роли стимуляторов, а затем в роли антагонистов (например, тридекаметоний), и, наконец, к веществам, которые прежде всего являются антагонистами, но сохраняют способность в определенных условиях возбуждать концевую пластинку (например, тубокурарин (4.19)). Еще одним примером такого рода может служить бемеград (14.3), принадлежащий к группе диалкилглутаримидов. Это соединение действует как аналептик и вызывает судороги, если в качестве алкильной группы фигурирует этильная (как в бемеграде), и как спятворное и противосудорожное, — если алкильный радикал более сложен, чем пропиловый. Сам же пропиловый аналог в малых дозах действует как спятворное, а в больших является аналептиком [1315]. По Пейтону, подобные градации в каждом ряду объясняются уменьшением скоростей диссоциации комплексов лекарственное вещество — рецептор.

На третий вопрос — почему эффективность повторных доз стимулятора обычно уменьшается, — гипотеза Пейтона дает следующий ответ: активность стимулятора пропорциональна скорости образования его комплекса с рецептором; при введении же повторных доз может случиться, что не все рецепторы, занятые в результате первоначального введения лекарственного вещества, успеют освободиться, и тогда число незанятых рецепторов окажется недостаточным, для того чтобы связать новые порции лекарственного вещества. Эта аргументация подкрепляется результатами опытов, проведенных на кишке морской свинки: реакция на введение повторных доз апетилхоллина, гистамина, а также других соединений, относящихся к классу четвертичных аминов, действительно оказалась более слабой по сравнению с эффектом от однократного введения [1101]. Аналогичные результаты были получены и в опытах с соединениями, принадлежащими к гомологическому ряду S-алкилизотиомочевины [506].

Если Пейтон прав и активность стимуляторов зависит от скорости их взаимодействия с рецептором, то возникает вопрос, почему именно скорость этой реакции играет более важную роль, чем степень насыщения рецепторов. Инг высказал предположение, что комплекс лекарственное вещество — рецептор может находиться в активированном переходном состоянии, которым и определяется фармакологическое действие. И в свою очередь фармакологическая активность может служить мерой активности комплекса в этом состоянии. Активированные комплексы лекарственное вещество — рецептор, как и все промежуточные активированные комплек-

сы, с которыми приходится иметь дело при исследовании механизмов различных реакций, характеризуются высоким уровнем энергии, а потому — недолговечны. Они либо быстро диссоциируют, либо превращаются уже в устойчивые (с небольшим запасом энергии) комплексы, которые блокируют рецепторы [745]. Существуют и другие точки зрения на этот процесс; например, предполагается, что происходят обменные процессы с участием иона калия [1101], хотя с химической точки зрения это представляется маловероятным. Более правдоподобной кажется гипотеза истощения органического субстрата, например АТФ. Следует отметить, что в области физиологии такое истощение представляет собой обычное явление; так, например, человек перестает чувствовать запах, а спустя некоторое время вновь начинает воспринимать этот запах. Возможности изучения скоростей протекания биологических процессов весьма ограничены, поэтому неизвестно, сколь велика вообще роль этого фактора. Для изучения скоростей идеальной была бы система, в которой диффузия лекарственного вещества осуществлялась бы беспрепятственно, а регистрация биологической реакции следовала бы без задержки непосредственно за действием стимулятора. Гипотезе Пейтона следует отвести важное место в истории, так как именно она привлекла внимание фармакологов к вопросам, связанным с кинетикой изучаемых ими процессов.

Дополнительные сведения о различных гипотезах действия лекарственных веществ см. в работах [76, 145, 549], а также «Развитие исследований лекарственных соединений», т. 3 (Progress in Drug Research, 1966).

**Индукция.** Механизм действия гормонов отличается от всех описанных выше. Считается, что гормоны *дерепрессуют* временно инактивированные участки ядерной ДНК, так что на них оказывается возможным синтез иРНК, которая в свою очередь осуществляет синтез соответствующих белков. Иными словами, под влиянием гормонов происходит *индукция*. В основе этой концепции лежат идеи, возникшие в процессе изучения генетической регуляции синтеза белка [766]. Предполагается [766], что в ДНК любой клетки содержится информация, необходимая для синтеза всех ферментов, которые могли бы когда-нибудь функционировать в клетке (в данный момент, в прошлом или в будущем). Однако в каждый данный момент многие из этих ферментов могут в клетке либо вообще отсутствовать, либо содержаться в ничтожных количествах. Происходит это потому, что существуют специальные гены-регуляторы, продуцирующие белковые молекулы-репрессоры, которые «экранируют» участки ДНК, соответствующие тем или иным *структурным генам*. Роль же гормонов-индукторов сводится к тому, чтобы инактивировать репрессоры. Было высказано также предположение, что индукторами служат вещества, способные стабилизировать ДНК в виде одноцепочечной молекулы (к числу таких индукторов относятся, в частности, тестостерон, эстрадиол, метилхолантрен, РНК-полимераза, комплементарная РНК), тогда как репрессоры, напротив, стабилизируют двухцепочечную форму ДНК (примеры: гистоны, полилизин, акридиновый оранжевый, актиномицин D) [538]. Обзор по индукции ферментов см. в [329].

Приведем следующий пример. Известно, что широко применяемый эстроген, эстрадиол-17 $\beta$ , через 2 мин после введения стимулирует синтез ядерной РНК в матке неполовозрелой овариэктомированной крысы. В течение этого же промежутка времени он стимулирует поглощение предшественника РНК ( $H^3$ -уридина) плазматической мембраной клеток матки. Эти данные иллюстрируют скорость, с которой под влиянием гормона происходит передача от ДНК информации, обеспечивающей синтез некоторых высокоспецифичных молекул РНК; тем самым создается постоянный приток этих последних, необходимый, по-видимому, для поддержания усиленного (под влиянием гормонов) синтеза белка в матке.

Аналогичные явления были обнаружены в опытах по действию альдостерона на мочевой пузырь, тироксина (9.11) на печень [1411] и экдизона на личинку у насекомых. Экдизон (гл. 1, разд. 4, ж) индуцирует ДНК-зависимый синтез (через посредство иРНК) фермента, ответственного за образование N-ацетил-3,4-диоксифенилэтиламина. В результате взаимодействия этого амина с белком, входящим в состав наружного покрова насекомых, происходит процесс линьки [802]. Используя актиномицин D, который служит специфическим ингибитором ДНК, удалось показать, что во всех этих случаях первичным местом действия служит именно ДНК.

Один из гормонов растений, индолил-3-уксусная кислота (11.11), может также индуцировать синтез ДНК [640], однако этот гормон способен и непосредственно влиять на синтез РНК [150], что, возможно, является более выгодным. Гиббереллины способны индуцировать синтез амилазы [1450].

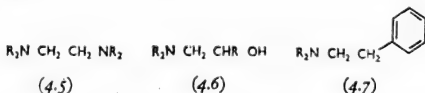
Имеются сведения, говорящие о том, что стероидные гормоны способны непосредственно действовать на мембраны [104], а также данные о влиянии гормонов на ферменты. Так, Топпер [1430] упоминает о том, что при ингибировании стероидным гормоном (прогестероном) альдегидоксидазы косвенно ускоряется процесс окисления галактозы, так как фермент, ответственный за это окисление, более не подавляется, поскольку его ингибитором служит продукт первого фермента. Стероидные гормоны эстрогенного и прогестогенного действия осуществляют эффективный контроль функций гипофиза по типу обратной связи, механизм которого остается неизвестным.

Нет необходимости продолжать обсуждение вопроса об индукции в связи с гормонами, так как их можно рассматривать как избирательно действующие токсические агенты только в тех случаях, когда они применяются в нефизиологических дозах (например, кортизон). Однако под другим углом зрения индукция рассматривается в гл. 2, разд. 3. Нумерация атомов в циклической системе стероидов указана в формуле (11.12). О действии гормонов на молекулярные процессы см. в [921].

#### 4. Некоторые общие особенности молекулярной структуры фармакодинамических лекарственных средств

Алкалоиды представляют собой «отходы» метаболизма растений. Накопление алкалоидов происходит только в тех частях растений, которые легко отделяются: в коре, листьях, плодах. В большинстве случаев действие алкалоидов направлено у млекопитающих на мышцы или нервы, т. е. как раз на те структурные элементы, которых у растений нет вообще.

В молекулярной структуре алкалоидов обнаруживаются некоторые общие черты. Повторяющаяся для всех алкалоидов схема строения такова: здесь имеется третичная аминогруппа, связанная цепью из двух-трех (реже четырех) насыщенных атомов углерода с другой третичной аминогруппой (4.5), вторичной спиртовой (4.6) или эфирной группой или же с ненасыщенным кольцом (4.7).



Такие группировки характерны, в частности, для структуры лобелина, атропина, кокаина, хинина, стрихнина, морфина — здесь мы называем самые известные из алкалоидов. Само собой разумеется, что в молекулах этих сложных веществ содержатся и другие кольца и заместители, однако

именно описанная выше группировка ответственна за их фармакологическое действие; эта группировка хотя бы частично может входить в состав гетероциклического кольца, например, пиперидина (хотя для активности алкалоидов это значения не имеет). Если в молекуле алкалоида содержится оксигруппа, то в большинстве случаев она ацилирована. Вся эта структура несколько напоминает схему строения таких активных азотсодержащих гормонов млекопитающих, как ацетилхолин (4.1), норадrenalин (4.2), адреналин (N-метилнорадrenalин) и гистамин (4.3).

Та же группировка входит в состав молекул современных (синтетических) фармакодинамических агентов, особенно местных анестетиков, антигистаминных и противорвотных средств, транквилизаторов, а также лекарственных веществ, которые в тех или иных случаях применяются вместо атропина. Таким образом, подобная система расположения атомов не является случайной. В институте Пастера в Париже Фурио и Бовэ начали около 1935 г. работу по исследованию фармакодинамической активности соединений, в молекулах которых содержалась та же система атомов, связанная с различными ненасыщенными циклами, ароматическими и гетероароматическими. В ходе этих исследований были найдены вещества, обладающие антигистаминной активностью, а также целая группа транквилизаторов типа хлорпромазина.

Можно предположить, что все эти вещества, независимо от того, алкалоиды это, азотсодержащие гормоны или искусственно синтезированные лекарственные вещества (при условии, что они содержат все ту же общую активную группировку), действуют на рецепторы, очень сходные между собой по химической структуре [75]. С первого взгляда такое предположение может показаться слишком смелым. Некоторые из этих соединений являются стимуляторами, другие — ингибиторами. Следует к тому же иметь в виду, что в ряде случаев даже значительные изменения в структуре активной группировки не сопровождаются заметной утратой специфической биологической активности. Так, например, вещества, обладающие местным обезболивающим действием, могут иметь либо структуру (4.5), либо (4.6). «Соединительная» цепь в этих соединениях может состоять из двух или трех углеродных атомов, которые иногда содержат небольшие по объему заместители, например метильные группы. Все это заставляет думать, что рецепторы у позвоночных не обладают той высокой специфичностью, какая характерна для многих ферментов в отношении их субстратов.

В полном соответствии с этим выводом находится тот факт, что лишь немногие фармакодинамические средства абсолютно специфичны. Обычно результат действия фармакодинамических агентов заставляет предполагать наличие преимущественного взаимодействия с одним, весьма специфичным рецептором, но, с другой стороны, их действие осложняется побочными эффектами, что указывает на взаимодействие с некоторыми другими рецепторами. Если, например, лекарственное вещество одновременно является местноанестезирующим, антигистаминным, спазмолитическим, анальгезирующим средством, антагонистом ацетилхолина (в тех, скажем, случаях, когда уровень его в различных тканях повышается в эксперименте) и к тому же способно увеличивать продолжительность рефрактерного периода сердца, то разумно предположить, что каждый из этих шести видов действия обусловлен взаимодействием с особым рецептором. Прокаин, мепирамин, папаверин, петидин (меперидин), атропин, хинидин и спартеин относятся именно к таким соединениям, обладающим всеми этими видами действия, но у каждого из них какой-нибудь один выражен сильнее остальных. Предполагается, что сходство в характере действия этих лекарственных агентов связано с общей для всех этих соединений способностью служить антагонистами ацетилхолина, гистамина, а возможно, и адреналина в разных тканях [262]. Специфичность рецепторов является гораздо менее строгой, чем специфич-

ность большинства наиболее важных ферментов, катализирующих анаболические и катаболические процессы, но все же рецепторы обладают не меньшей специфичностью, чем микросомные ферменты, катализирующие процессы расщепления (гл. 2, разд. 3). Так, например, в ганглиях никотин (4.17) [но не мускарин (11.25)] может заменить ацетилхолин, тогда как в постганглионарных парасимпатических синапсах ацетилхолин может, напротив, быть замещен мускарином, но не никотином (табл. 15). Далее специфичными антагонистами ацетилхолина служат в нервно-мышечном соединении тубокурарин, в ганглиях — гексаметоний, а в парасимпатических постганглионарных синапсах — атропин (табл. 15).

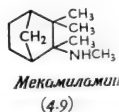
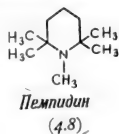
Таблица 15

## Лекарственные вещества, действующие на периферические синапсы

Синапсы	Стимуляторы			Антагонисты природных медиаторов
	природный медиатор	вещества, имитирующие действие природных медиаторов	вещества, препятствующие разрушению медиатора	
1. Нервно-мышечное соединение	Ацетилхолин (4.1)	Никотин (4.17)	Эзерин (4.25)	Тубокурарин (4.19)
2. Ганглионарные (симпатические и парасимпатические)	Ацетилхолин	Никотин	Эзерин	Гексаметоний (4.21) Тубокурарин (слабый) Никотин (в избытке) Атропин (4.14)
3. Постганглионарные нервные окончания (парасимпатические)	Ацетилхолин	Мускарин (11.25)	Эзерин	
4. Постганглионарные нервные окончания (симпатические)	Норадреналин (4.2)	Фенилэфрин (4.36)	$\beta$ -Фенилэтил-гидразин (6.41) Пирогаллол	Дибенамин (11.16) Дигидроэрготамин Дихлоризопроп-алин (4.38)

Если допустить, что рецепторы для стимуляторов обладают ограниченной специфичностью, то и тогда создание специфических лекарственных средств все же окажется возможным. Для этого а) ионные (гл. 8) и липофильные (гл. 2, разд. 2) свойства соответствующих соединений должны быть подобраны таким образом, чтобы обеспечить наилучший доступ вещества к месту его действия; б) в состав их молекул должны быть введены группировки, которые создадут стерические препятствия для миграции к другим рецепторам [505]. Кроме того, надо стремиться к тому, чтобы структура лекарственного вещества была предельно простой, так как при этом уменьшается возможность побочных эффектов.

В разд. 3 настоящей главы уже упоминалось о том, что по мере возрастания молекулярного веса способность веществ проявлять антагонистические свойства начинает преобладать над способностью служить стимуляторами. Ганглиоблокаторы пемпидин (4.8) и мекамиламин (4.9) представляют собой как раз вещества, созданные с учетом некоторых из этих требований. Мекамиламин оказался эффективным гипотензивным средством.



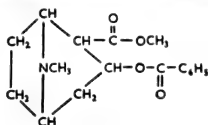


## 5. Модификация природных соединений с целью получения более простых производных

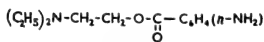
В конце прошлого века были начаты исследования, имеющие целью модифицировать молекулы природных соединений таким образом, чтобы получить более простые по структуре вещества, обладающие терапевтической активностью. При этом стремились создать соединения, которые было бы легче синтезировать и которые не давали бы побочных эффектов, обусловленных некоторыми определенными фрагментами молекул природных соединений. Одним из первых достижений на этом пути было введение в 1875 г. в медицинскую практику салициловой кислоты. Вскоре салициловая кислота, ее соли и некоторые производные, например аспирин, вытеснили из употребления ивовую кору и салицилглюкозид, содержащийся в этой коре.

В прошлом веке было обнаружено, что многие алкалоиды растительного происхождения обладают сильным фармакологическим действием. Работа по упрощению структуры кокаина (4.10) увенчалась успехом. Создание прокаина (4.11) (новокаина), который оказался в некоторых отношениях более ценным местноанестезирующим средством, удовлетворяло медиков и отвечало потребностям производства. Прокаин в отличие от кокаина не проникает через слизистые, но зато действие его не сопровождается побочными эффектами, характерными для действия кокаина. Прокаин очень быстро получил широкое распространение в качестве местноанестезирующего средства в зубо врачебной практике, где он находит применение до настоящего времени. Руководящий принцип в работе по упрощению структуры алкалоидов состоит в том, чтобы представить себе насыщенный гетероцикл разомкнутым, что очень незначительно сказывается на физических и химических свойствах молекулы. Например, молекулу кокаина при таком рассмотрении можно представить в форме бензоильного эфира 3-аминопропанола. В структуру этой молекулы вносились различные незначительные изменения, до тех пор пока не удалось найти наиболее удачный вариант.

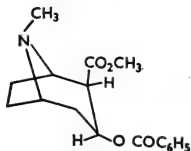
Для того чтобы добиться правильного соотношения гидрофильных и липофильных свойств, в бензоильный остаток молекулы прокаина вводили аминогруппу, однако в дальнейшем было установлено, что того же эффекта можно было достигнуть другими способами [907].



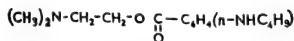
Кокаин  
(4.10)



Прокаин  
(4.11)



Кокаин  
(конформационная формула)  
(4.12)



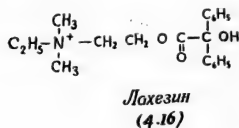
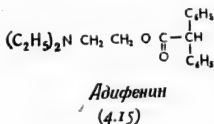
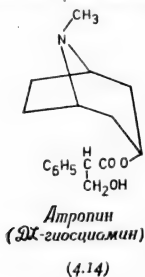
Аметокаин  
(4.13)

В настоящее время известно [526], что молекула кокаина имеет жесткую, строго фиксированную в пространстве конфигурацию (4.12), тогда как в молекуле прокаина (4.11) возможна большая свобода вращения, что открывает больше возможностей для адаптации молекулы в отношении рецептора.

В дальнейшем структура прокаина была модифицирована, в результате чего удалось получить (для специальных медицинских целей) вещество, способное легко проникать через слизистые оболочки. Широко применяемый местноанестезирующий препарат аметокаин (тетракаин, десикаин) (4.13) был получен в результате внесения в структуру молекулы прокаина изменений, которые сводились к следующему: липофильные группы были перемещены от диэтиламиногруппы к другому концу молекулы, причем исчез атом Н, способный образовывать водородную связь. Прежде чем удалось найти такое простое решение проблемы, было проделано много неудачных экспериментов (см. по этому вопросу обзор [109]). Сейчас известно, что очень многие препараты обладают местноанестезирующим действием. Словоэфирная группа в молекуле прокаина может быть заменена амидной или, как в случае (4.34), «перевернутой» амидной группой. Выгодной особенностью сложных эфиров является их способность быстро гидролизываться под действием эстераз сыворотки. Такие местноанестезирующие препараты теряют токсичность, как только диффундируют из нервов, и поэтому длительность анестезии легко поддается контролю.

Метод упрощения структуры природных соединений давал в ряде случаев блестящие результаты. Не следует, однако, забывать об опасностях, которые подстерегают исследователя на этом пути. Мы уже писали в разд. 3 настоящей главы, что можно ожидать превращения соответствующего антагониста в агонист, если структура его молекул будет изменена слишком сильно. Кроме того, отщепление групп, обуславливающих стерические препятствия, может повести к тому, что лекарственное вещество начнет взаимодействовать с чрезмерно большим числом разнообразных рецепторов.

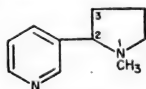
Теперь об атропине (DL-гиосциамин). Конформация атропина (4.14) была выяснена сравнительно недавно [526]; в начале XX в. удалось установить, что в состав молекул атропина и кокаина входит одна и та же циклическая система тропина. В связи с этим были предприняты попытки и в данном случае получить структуры с разомкнутым кольцом. Для синтеза веществ, подобных адифенину (тразентин) (4.15), в качестве исходной была



использована структура прокаина (4.11), но в сложный эфир вводилась более объемистая кислотная группа, с тем чтобы повысить сходство с соответствующей частью молекулы атропина (4.14). Адифенин действует на нервные окончания, подобно атропину, но в отличие от него не вызывает расширения зрачков. Адифенин применяют при спазмах желудочно-кишечного тракта, мочеполовых и желчных путей.

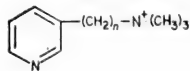
Лахезин (4.16) вводится в качестве мидриатического средства вместо атропина в тех случаях, когда атропин [746] вызывает сильно выраженные побочные явления [746]. Атропин, как известно, является антагонистом ацетилхолина. В связи с этим и возникла мысль о целесообразности введения четвертичного атома азота в молекулу. Адифенин оказывает, кроме того, слабое папавериноподобное действие, а лахезин обладает мягким центральным седативным действием. Оба эти побочных эффекта в условиях клиники расцениваются как благоприятные, хотя сопутствуют они действию этих препаратов совершенно случайно и ни ацетилхолина, ни атропина не при-  
сути.

Никотин (4.17) (табл. 15) в синапсах выступает в одних случаях в роли стимулятора, в других — в качестве блокирующего агента. Наиболее выраженными основными свойствами в молекуле обладает атом азота,  $N_{(1)}$ , в пирролидиновом кольце ( $pK_a$  8,0). Если этот атом азота кватернизировать, то стимулирующая активность вещества несколько уменьшится, а его блокирующее действие незначительно возрастает. Если представить себе пирролидиновое кольцо в молекуле никотина разомкнутым, то получаются производные пиридина, содержащие четвертичный атом азота в каждой боковой цепи. По этому принципу был синтезирован целый ряд таких соединений. Одно из них, триметил-(3-пиридилметил)аммонийхлорид (4.18,  $n = 1$ ), не уступает в активности никотину в экспериментах по стимуляции двубрюшной мышцы шеи курицы. Высший его гомолог (4.18,  $n = 2$ ) в 2,6 раза более активен и по своим физико-химическим свойствам, как полагали, стоит ближе к никотину, так как обладает более выраженной липофильностью и для него меньше вероятность стерических столкновений между катионной группой и пиридиновым кольцом. Никотин и его аналоги в активной форме выступают в форме монокатионов независимо от того, какое действие они оказывают, стимулирующее или блокирующее [110].



Никотин

(4.17)



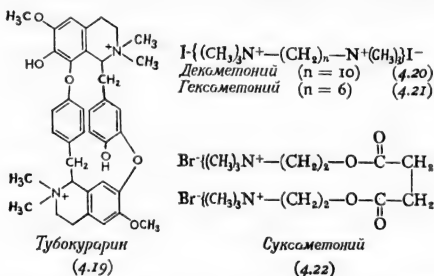
(4.18)

Работа по упрощению структуры тубокурарина (4.19) была предпринята сразу же, после того как было установлено его строение [823]. Еще в 1869 г. было показано [373], что различные алкалоиды в результате метилирования по атому азота приобретают курареподобные свойства. Например, если в результате метилирования стрихнина атом азота из третичного состояния переходит в четвертичное, то полученное вещество уже не обладает присущей стрихнину способностью вызывать сильные судороги и превращается в мышечный релаксант типа тубокурарина. Даже простые четвертичные алифатические амины обладают курареподобным действием при условии, что содержат хотя бы одну метильную группу; однако активность этих соединений настолько мала, что для практических целей они оказываются непригодными. Инг [743] в 1936 г. пришел к выводу, что механизм действия тубокурарина и сходных с ним четвертичных аминов заключается

(разд. 3) в блокировании концевой пластинки в нервно-мышечном соединении и, таким образом, в ингибировании действия ацетилхолина (4.1).

Вскоре было обнаружено, что вещества, содержащие две или более четвертичных аминогрупп в молекуле, обладают выраженной способностью ингибировать передачу нервного импульса в синапсах. Так, декаметоний [декан-бис-(триметиламмонийподид)] (4.20) вызывает нервно-мышечный блок [112, 1104]. Тщательно проведенные исследования показали, что декаметоний сначала действует как аналог ацетилхолина, т. е. вызывает деполаризацию, которую легко обнаружить с помощью неполяризуемых серебряных электродов [266], и только во второй фазе действия выступает в качестве агента, подобного тубокурарину, т. е. блокирует действие ацетилхолина. Аналогичным образом действует и суксаметоний (4.22) [208]. Сначала он вызывает слабую мышечную контрактуру, за которой следует длительный период релаксации, обусловленный тем, что эти вещества прочно адсорбируются на рецепторах и, таким образом, препятствуют проникновению к рецепторам выделяющегося ацетилхолина. Именно благодаря своей способности вызывать релаксацию указанные лекарственные вещества находят столь широкое применение в качестве вспомогательных средств при наркозе.

В основе действия истинных курареподобных лекарственных веществ лежит конкуренция с ацетилхолином, и поэтому их действие легко снимается неостигмином (4.26); для декаметония и суксаметония эффективные антитоды неизвестны. Суксаметоний тем не менее используется в качестве мышечного релаксанта при операциях, так как действие его длится всего 5 мин; это объясняется тем, что он легко гидролизруется эстеразами сыворотки.

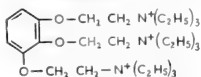


Одно из самых простых по структуре соединений, обладающих истинным тубокурариноподобным действием, галламин (4.23), метильных групп при атоме азота не содержит [207]. Галламин широко используется в хирургической практике в качестве мышечного релаксанта.

Исследования гомологического ряда бис-ониевых соединений, к которому, в частности, принадлежит и декаметоний (4.20), позволили показать, что его низший гомолог, названный впоследствии гексаметонием (4.21), представляет собой превосходный ганглиоблокатор. Он эффективно блокирует рецепторы ацетилхолина в автономных ганглиях в отличие от тубокурарина, у которого эта способность выражена очень слабо. Гексаметоний при употреблении *per os* малоэффективен, поэтому в дальнейшем он был заменен пентолинием (4.24), который оказался очень ценным гипотензивным средством.

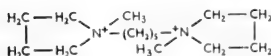
Существуют лекарственные вещества, усиливающие действие эндогенного ацетилхолина. Эти вещества ацилируют и таким образом блокируют фермент ацетилхолинэстеразу (гл. 10, разд. 3). К этому классу лекарствен-

ных соединений прежде всего относятся органические фосфаты и карбаматы. Алкалоид физостигмин (эзерин) (4.25) давно уже применяется в терапии; в настоящее время ясно, что механизм его действия состоит в следующем: он усиливает эффективность собственного ацетилхолина [923]. Физостигмин эффективно угнетает активность ацетилхолинэстеразы в синапсах нерв — нерв и нерв — мышца даже в разведении  $10^{-7}$  M (табл. 15).



Галламин (катион)

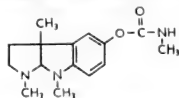
(4.23)



Пенталиний (катион)

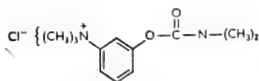
(4.24)

Стедман [1364] пришел к выводу, что в молекуле физостигмина активной группировкой, ответственной за его действие, служит метилуретановая группа. Он синтезировал ряд простых по структуре производных фенола, этерифицированных моно- и диметиламинотравяной кислотой. Далее выяснилось, что необходимо также присутствие в молекулах подобных соединений основной группы, ионизирующей при pH7. Так Стедман пришел к единственному способу увеличить низкую основность ароматической аминогруппы — к кватернизации. В результате этой работы он ввел в употребление вместо физостигмина неостигмин (простигмин) (4.26), который лишен некоторых побочных эффектов, присущих физостигмину. Неостигмин с большим успехом применялся для лечения *myasthenia gravis* (заболевания, которое характеризуется мышечной слабостью). На ганглии неостигмин оказывает слабое стимулирующее действие, аналогичное действию ацетилхолина [288, 455].



Физостигмин (эзерин)

(4.25)



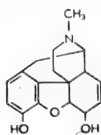
Неостигмин

(4.26)

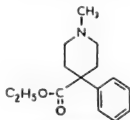
Поиски простого аналога, способного заменить алкалоид морфин (4.27), в течение длительного времени были безрезультатными. Наконец, в 1938 г. был получен петидин (меперидин) (4.28) [195]. За этим последовал новый успех — открытие нового класса негетероциклических препаратов, например метадона (4.29), который и по своей активности, и по фармакологическим свойствам очень близок к морфину. Петидин же обладает лишь некоторыми из свойств морфина и применяется главным образом в акушерской практике в качестве анальгезирующего средства, так как не влияет на дыхание плода, что, несомненно, является весьма ценным качеством<sup>1</sup>. История

<sup>1</sup> В СССР с успехом применяется более сложное производное пиперидина — синтезированный акад. Назаровым И. Н. и исследованный акад. АМН Машковским М. Д. препарат промедон. — Прим. ред.

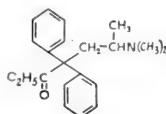
открытия этих активных анальгезирующих препаратов и рассмотрение вопросов о связи между структурой этих соединений и их действием приведены в работе [158]. Stereoхимические аспекты этих явлений обсуждаются в гл. 11, разд. 4, г. В настоящее время испытываются некоторые новые аналоги морфина, которые, видимо, обладают сильным анальгезирующим действием и при этом не вызывают пристрастия; их действие, в частности, не сопровождается явлениями эйфории, связанными с развитием пристрастия, обычно сопровождающим применение анальгезирующих средств. К таким соединениям относится, в частности, пентазоцин (фортрал), который обладает  $\frac{1}{3}$  анальгетической активности морфина и, как это было признано специальным комитетом ВОЗ, не вызывает развития пристрастия. Следует также упомянуть о бензоморфине, в общем сходном по структуре с морфином, с той разницей, что в его молекуле отсутствует кольцо, показанное в формуле (4.27) справа, а также кислородсодержащее кольцо (4.27).



*Морфин*  
(4.27)



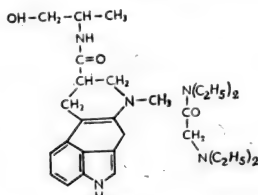
*Петидин*  
(Меперидин)  
(4.28)



*Метадон*  
(4.29)

Предпринимались многочисленные попытки упростить структуру алкалоидов спорыньи, из которых в клинике наиболее широко применяется эргометрин (4.30). Действие этого соединения на матку обусловлено наличием в его молекуле последовательности атомов, начинающейся от вторичной аминогруппы и идущей к амидной группе. Этим же объясняется, что даже такое простое модельное соединение, как тетраэтилглицинамид (4.31), вызывает резкое сокращение матки, подобно эргометрину, и в то же время не обнаруживает присущего эргометрину симпатолитического и сосудосуживающего действия.

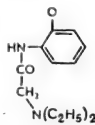
Группа близких по структуре соединений, обладающих более выраженными липофильными свойствами, особенно N,N-диэтил-N'-(2-этоксифенил)глицинамид (4.32) по силе действия и по его характеру сходны с эргометрином. Вещество (4.32) по своей химической структуре очень сходно с широко распространенным местным анестетиком лидокаином (4.34).



*Эргометрин*  
(4.30)



(4.31)



(4.32)

## 6. Классификация фармакодинамических агентов

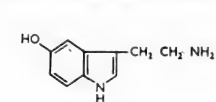
Существуют разнообразные способы классификации фармакодинамических лекарственных средств. Иногда, создавая систему классификации, в первую очередь руководствуются сферой применения лекарственных веществ в терапии с тем, чтобы дальнейшее подразделение на группы основывалось на характере их действия. Так, например, лекарственные препараты, которые применяются в качестве гипотензивных средств, подразделяются на следующие группы: а) препараты с центральным действием (например, резерпин); б) препараты, блокирующие симпатические ганглии (например, пентолинин); в) средства, которые служат антагонистами сосудосуживающего действия адреналина (например, феноксизамин) и г) препараты, расширяющие кровеносные сосуды за счет действия на мышечный слой их стенки (например, нитриты). Такой метод классификации лекарственных веществ, основанный на их терапевтическом применении, носит описательный характер и в этой книге использован не будет. В дальнейшем мы будем подразделять лекарственные вещества на группы в зависимости от места приложения их действия.

### *а. Лекарственные препараты, действующие на центральную нервную систему.*

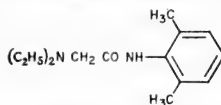
Они в свою очередь подразделяются на депрессанты и стимуляторы. Типичными представителями группы депрессантов центральной нервной системы служат наркотические средства общего действия, например эфир и хлороформ (гл. 14). Эти вещества угнетают в первую очередь высшие центры и только вслед за этим низшие. В самую последнюю очередь происходит блокирование центров в продолговатом мозгу и прекращается дыхание. С введением в медицинскую практику около 1940 г. мышечных релаксантов надобность в глубоком наркозе при операциях отпала. Что касается снотворных средств (например, хлоралгидрата и барбитуратов), то они являются депрессантами центрального действия и вводятся обычно внутрь, причем достигается значительно более слабый эффект, чем при общем наркозе. Некоторые быстродействующие барбитураты (например, тиопентал) вводят обычно парентерально перед операцией, с тем чтобы получить немедленный наркотический эффект, после чего применяют препараты для ингаляционного наркоза. Спирт — также депрессант, но его действие на центральную нервную систему выражено слабее. У некоторых людей под действием спирта происходит преимущественное угнетение сенсорных элементов нервной системы, а не двигательных, в результате чего наблюдается состояние беспокойства.

Существуют лекарственные вещества, не обладающие общим угнетающим действием на центральную нервную систему, а способные угнетать лишь отдельные центры мозга. Самые важные из них таковы: 1) морфин и морфиноподобные анальгезирующие средства, которые оказывают болеутоляющее действие, не вызывая у больного сна; 2) болеутоляющие средства типа фенацетина и аспирина, которые устраняют только *слабые* болевые ощущения; 3) противосудорожные средства, которые применяются при эпилепсии, но снотворным действием не обладают, например фенитоин (дифенилгидантоин); 4) вещества, действующие на специфические центры в мозгу и вызывающие явления паркинсонизма, например диазепам (дипаркол); 5) противосудорожные препараты, действующие преимущественно на спинной мозг, например мефенезин. Что касается транквилизаторов, то большинство из них, в том числе резерпин, а также значительно более ценные препараты, принадлежащие к группе фенотиазина (например, хлорпромазин), представляют собой депрессанты с очень специфической активностью.

Снотворным действием они почти не обладают. По-видимому, они подавляют активность главным образом подкорковых центров, ретикулярной формации среднего мозга и гипоталамуса. Резерпин способствует инаktivации норадреналина и истощению его запасов, нарушая тем самым адренергические функции [265]. У человека под влиянием катехоламинов изменяется картина электрической активности коры в результате стимуляции периферических  $\alpha$ -рецепторов (определение см. в гл. 11, разд. 4, а). То же происходит и у взрослых кур, однако у цыплят, у которых отсутствует гематоэнцефалический барьер, резерпин вызывает состояние физиологического сна. Производные фенилэтиламина, обладающие более выраженными липофильными свойствами (что связано, в частности, с отсутствием  $\beta$ -оксигруппы), представляют собой истинные стимуляторы центрального действия [422]. По мнению Броди, резерпин является парасимпатическим стимулятором центрального действия, а хлорпромазин — адреноблокатором центрального действия [228]. 5-Окситриптамин, или серотонин (4.33), — тканевой гормон, играющий особую роль в тканях головного мозга [553].



5-Окситриптамин  
(4.33)



Лигноксин (ксилкоксин)  
(4.34)

Средства, возбуждающие центральную нервную систему, подразделяются на: 1) антагонисты центральных депрессантов, например пикротоксин, бемегрид и лентазол, которые в больших дозах вызывают судороги; 2) вещества, обладающие способностью специфически возбуждать дыхательный центр в головном мозгу, например лобелин; 3) психостимулирующие лекарственные средства, с помощью которых можно увеличивать работоспособность за счет энергетических резервов организма; к ним относятся кофеин, который, кроме того, обладает способностью непосредственно стимулировать сердечную деятельность и диурез, и амфетамин (бензедрин), который также стимулирует симпатическую нервную систему (см. ниже) и снижает аппетит; 4) стрихнин, который вызывает судороги не за счет стимуляции, а в результате блокирования естественного ингибитора в спинном мозгу [454].

Очень немного известно о природе медиаторов в центральной нервной системе. Важную роль в ЦНС играет ацетилхолин [383, 853] и, возможно, также норадреналин, 5-окситриптамин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота и другие аминокислоты, например глицин и глутаминовая кислота [385].

#### 6. Лекарственные вещества, действующие на периферические нервные волокна.

К этому классу соединений относятся только депрессанты. Они в общем действуют только на тонкие волокна, вследствие чего чувствительные нервы поражаются ими в большей степени, нежели двигательные. Эти лекарственные агенты, широко применяемые при местной анестезии, используют также при спинномозговой анестезии. Они повышают порог возбуждения и, таким образом, блокируют распространение нервного импульса, не вызывая депрляризации нервного волокна.



Между местноанестезирующим действием и значениями коэффициентов распределения в системе липид/вода взаимосвязи не обнаружено. Местноанестезирующие средства не обладают ни общим обезболивающим, ни снотворным действием, даже если применяются в избыточных количествах (гл. 13, разд. 1). Действие местных анестетиков объясняют конкуренцией с ацетилхолином за рецептор [1034]. В связи с этим в 1956 г. Штрауб выдвинул предположение, что местноанестезирующие препараты уменьшают скорость проникновения через мембрану ионов натрия в фазе возрастания первого потенциала. Это нашло подтверждение в опытах по действию прокаина на гигантский аксон кальмара с использованием метода фиксации напряжения [1415]. Такие же результаты были получены в экспериментах на портяжной мышце лягушки (с вживлением микроэлектродов в одиночное нервное волокно) [750]. Было показано, что молекулы прокаина конкурируют с экзогенными ионами натрия, так что увеличение проводимости за счет ионов натрия, которое возникает как нормальная реакция на раздражение, оказывается подавленным. Далее, с помощью того же метода фиксации напряжения в опытах на одиночных миелинизированных нервных волокнах лягушки (перехват Ранвье) было показано, что действие лигнокаина (4.34), прохлорперазина и тетродотоксина (4.4) (значения  $pK_a$  соответственно равны 7,9; 7,6; 12,5) связано с транспортом катионов и является внешним по отношению к нервному волокну. По всей видимости, молекулы трех этих лекарственных веществ, соединяясь с анионными группами, расположенными по пути следования ионов натрия («каналы» для ионов натрия), блокируют движение последних. На движение ионов калия они не влияют [681].

Рекомендуем вниманию читателя некоторые обзоры по местноанестезирующим средствам [1201, 1500].

#### *в. Лекарственные вещества, действующие на периферические нервные окончания*

Вкусовые ощущения и запах обусловлены раздражением окончаний чувствительных нервов. Раздражение нервных окончаний этих нервов можно вызвать также различными электрическими, термическими и механическими воздействиями. Вератрин и амидины раздражают нервные окончания в сердце и в легких, что ведет к рефлекторному снижению кровяного давления. Помимо этого, мало что известно о химическом раздражении нервных окончаний под действием лекарственных веществ.

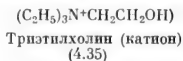
Что касается химического раздражения окончаний двигательных нервов, то по этому вопросу имеется обширная литература, для знакомства с которой своего рода введением может послужить материал, изложенный в разд. 3 (см. также табл. 15). В дополнение к уже сказанному нужно отметить следующее: не исключено также, что нервный импульс может вызвать выделение из холинэргического волокна лишь ничтожного количества ацетилхолина, но этот ацетилхолин в свою очередь вызовет выделение из депо вблизи синапса большого количества ацетилхолина, достаточного для того, чтобы передача импульса могла состояться [837].

В разд. 5 уже упоминалось о том, что существует два механизма блокирования действия ацетилхолина в нервно-мышечном соединении: с деполаризацией или без нее. Существует соответственно и два типа ганглиоблокаторов: одни (например, соли тетраэтиламмония и тубокурарин) блокируют рецепторы для ацетилхолина, не вызывая при этом деполаризации, а другие (например, соли тетраметиламмония и никотин в избытке) блокируют рецепторы и вызывают одновременно длительную деполаризацию постсинаптической мембраны [1102].

Большой интерес для фармакологов представляют новые ингибиторы, ингибирующие синтез ацетилхолина в окончаниях двигательных нервов.

Триэтилхолин (4.35)<sup>1</sup> — одно из более простых по структуре соединений этого типа [253]. Существуют и соединения с более сложной структурой, например гемихолиний [1286]. Эти вещества препятствуют транспорту холина, тем самым лишая ацетилтрансферазу ее субстрата. Действие этих веществ снимается холином [948]. Гликолевые кислоты, содержащие липофильные заместители (например, *n*-фенилминдальная кислота), ингибируют активность ацетилтрансферазы в головном мозгу [714].

Стимуляция *адренергических синапсов* достигается с помощью веществ, которые по химической структуре сходны с норадреналином. Известно два типа таких соединений: а) вещества с гидроксильной группой в *мета*-положении в бензольном кольце, например допамин и фенилэфрин (неосинефрин) (4.36); эти вещества взаимодействуют, по-видимому, с теми же рецепторами.



что и норадреналин; б) вещества, не имеющие гидроксильной группы в *м*-положении, например тирамин, эфедрин и амфетамин (бензедрин) (4.37); эти вещества высвобождают норадреналин из его депо вблизи синапсов [264, 1288].

Некоторые амины, относящиеся ко второй группе (например, амфетамин), способны ингибировать моноаминоксидазу, что может усиливать эффект их действия. Однако надо иметь в виду, что моноаминоксидаза — лишь один из целой группы ферментов, способных разлагать норадреналин. Наиболее активным из этих ферментов является катехин-О-метилтрансфераза [86]. Амфетамин, кроме того, стимулирует центральную нервную систему.

О возможном механизме действия норадреналина и других катехоламинов, а также об  $\alpha$ - и  $\beta$ -рецепторах — см. гл. 11, разд. 4, а. Там же можно найти сведения об адренергических блокаторах дихлоризопреналине (4.38), пропранололе (11.22) и дибенамине (11.16).

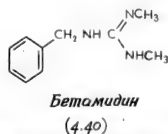
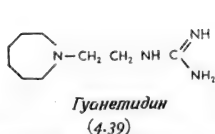
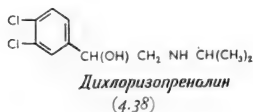
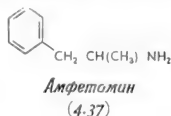
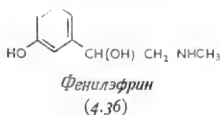
Некоторые алифатические амины, в особенности 6-амино-2-метил-2-гептанол, высвобождают норадреналин из депо [563] в стенках кровеносных сосудов и в соседних с ними хромаффинных клетках. Оказалось, что катехоламины (норадреналин, адреналин, допамин), введенные в кровь, концентрируются именно в этих депо [671].

Имеется еще один класс соединений, к которому принадлежат вещества, способные предупреждать выделение нейrogормона (возможно, норадреналина) из симпатических нервных окончаний, не блокируя при этом рецепторы норадреналина. Предполагается, что они вызывают такие изменения в мембране, которая окружает пузырьки, содержащие нейrogормон, что она становится непроницаемой [206, 263]. Типичными примерами таких веществ служат гуанетидин (4.39) и бетамидин (4.40). Они оказались пригодными для лечения не слишком серьезных случаев гипертонической болезни, тогда как пентолиний (см. выше, там, где речь идет о ганглиоблокаторах) используется при более серьезных случаях гипертонии. Дополнительно по вопросам накопления норадреналина в симпатических нервах см. у Иверсена [760].

В заключение обзора о фармакодинамике постганглионарных волокон следует указать на неправомерность понятий «симпатомиметический» и «парасимпатомиметический» в применении к нервам. У человека большинство органов иннервируется как симпатическими, так и парасимпатическими нервами, которые являются функциональными антагонистами; поэтому действие «парасимпатомиметического» лекарственного вещества может

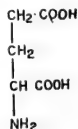
<sup>1</sup> Более строгое химическое название триэтилхолина — триэтил- $\beta$ -оксиптиламмоний. — *Прим. ред.*

состоять либо в стимуляции парасимпатических рецепторов, либо в блокировании симпатических. Кроме того, как указывалось выше, некоторые симпатические волокна являются холинергическими. Далее, термины «холинергический» и «адренергический» применяются для характеристики нервов, а не веществ. И, наконец, понятие «адренолитический» по отношению к антагонистам адреналина не имеет смысла, так как «адренолитический» означает «разрушающий молекулу адреналина» [508].



Характеристику химических аспектов автономной нервной системы можно получить в [1438].

**Нервная система насекомых и инсектициды.** Действие некоторых из наиболее распространенных инсектицидов состоит в непосредственной стимуляции нервной системы насекомых, что впоследствии приводит к их гибели. Главная составная часть центральной нервной системы насекомых — двойная нервная цепочка, расположенная вентрально, с парными ганглиями в каждом сегменте, от которых отходят периферические нервы. Аксон такого нерва в диаметре имеет до 10 мк и заключен в тонкую немиелинизированную липопротеидную оболочку. Эти аксоны объединены в нервные волокна, которые окружены подогнанными друг к другу слоями клеток нейроглии, а все это вместе в свою очередь одето белковой оболочкой. Поляризация нерва в состоянии покоя сходна с поляризацией нерва у позвоночных (разд. 3 настоящей главы). При электрической стимуляции возникают спайки, следующие один за другим с интервалами 1 мсек. Однако потенциал действия распространяется со скоростью всего около 2 м/сек, т. е. примерно в 50 раз медленнее, чем в значительно более крупных миелинизированных аксонах позвоночных.



**Глутаминовая кислота**  
(4.41)

Считают, что химическим медиатором в ганглиях насекомых служит ацетилхолин, содержащийся в их мозгу в больших количествах. Роль медиатора в нервно-мышечном соединении у насекомых выполняет, по-видимому, L-глутаминовая кислота (4.41), а не ацетилхолин, как у млекопитающих [817, 1448].

ДДТ (2.30) так же, как и другие хлорированные инсектициды, вызывает сильную стимуляцию нервной системы, сопровождающуюся судорогами, которые возникают в результате значительного повышения уровня ацетилхолина. Впервые это было показано на тараканах. Повышение уровня ацетилхолина происходит, по-видимому, за счет связанной его формы (т. е. содержащего пузырьков в пресинаптических нервах) и не является результатом угнетения активности холинэстеразы [908] или увеличения скорости образования ацетилхолина [1238]. Предполагается, что следующая за судорогами терминальная стадия связана с изменениями, под влиянием ДДТ, проницаемости мембран для калия, причем происходит торможение обратного транспорта этого катиона после каждого импульса [1068]. Фосфорорганические инсектициды также вызывают появление избыточного количества ацетилхолина, однако в данном случае это происходит в результате блокирования активности фермента, разрушающего ацетилхолин (гл. 10, разд. 3).

Токсическое действие ДДТ и фосфорорганических инсектицидов приводит обычно к гибели насекомых, при условии, что дозы инсектицида достаточно велики. Но и в тех случаях, когда доза недостаточна или насекомые оказываются резистентными, наблюдается вторичный эффект, а именно выделение в избытке какого-то нейрофизиологически активного вещества, который оказывает детальное действие на насекомых. Это вещество выделяется также в результате воздействия вибрацией или при электрическом шоке.

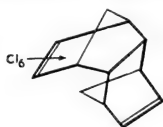
Источником этого эндотоксина служит, по-видимому, главным образом вентральная нервная цепочка [1374]. Линдан такого эффекта, по-видимому, не дает. Строение эндотоксина до сих пор не установлено. Известно только, что это не ацетилхолин и что при введении другим насекомым он оказывает токсический эффект.

Для того чтобы объяснить появление таких больших количеств ацетилхолина в результате воздействия ДДТ, дильдрина и других хлорированных инсектицидов, была предложена интересная гипотеза [1559]. Предполагается, что под действием этих агентов происходит разрыв оболочек большинства пресинаптических пузырьков, содержащих ацетилхолин, в депо в нервных ганглиях. В норме синтез ацетилхолина и образование новых пузырьков, содержащих этот гормон, происходит только после того, как под влиянием очередного нервного импульса часть пузырьков опорожняется. Согласно только что изложенной гипотезе инсектициды вызывают мгновенное выделение ацетилхолина из пузырьков.

Токсическое действие ДДТ развивается медленно. Сначала наблюдаются непроизвольные движения ног (но не крыльев) насекомых. Однако непосредственная причина гибели — не изнеможение, вызванное этим непрекращающимся движением, так как опыт показал, что и наркотизированные насекомые погибают в те же сроки. Действие  $\gamma$ -гексахлорциклопексана (линдана) и хлорированных инсектицидов группы дильдрина — альдрина развивается еще медленнее, причем наблюдаются непроизвольные движения теперь уже крыльев, а не ног. Пиретрин поражает нервную систему насекомых очень быстро, причем непроизвольные движения отсутствуют. Однако случаи восстановления функций после отравления пиретрином отмечаются чаще. Устойчивость к действию дильдрина означает также резистентность к пиретруму, так как дильдрин индуцирует синтез соответствующего деструктивного фермента.

Солоуэй [1351] испытал на шести видах насекомых 106 различных хлорированных циклодиеновых инсектицидов и пришел к выводу, что взаимодействие с рецепторами определяется геометрией молекул. Для того чтобы могло осуществиться электростатическое взаимодействие и связывание с рецепторами, в молекуле инсектицида должно присутствовать два богатых электронами центра (Cl, O, N, S или двойная связь). Так, дигидроальдрин имеет только один такой центр в молекуле и потому слабо токсичен для насекомых, тогда как альдрин служит эффективным инсектицидом (4.42): он представляет собой *эндо-эндо*-1,2,3,4,10,10-гексахлор-1,4:5,8-диметилгексагидронафталин.

Критические очертания, характерные для таких молекул почти сферической формы, показаны на схеме (4.43). Такая конфигурация получается, если рассматривать модель молекулы вдоль линии, соединяющей метиленовые атомы углерода, образующие мостики 1,4 и 5,8. Выступы в левой верхней части на схеме (4.43) изображают три атома хлора, которые и составляют один из необходимых центров с высокой электронной плотностью. Вторым таким центром (в молекуле альдрина) служит двойная связь, которой на схеме соответствует правый нижний выступ.



Альдрин

(4.42)



Критические очертания, характерные для активных молекул хлорированных инсектицидов

(4.43)

Такие же очертания получаются и для молекулы линдана, обладающего сходным типом действия. Все вариации в структуре, благоприятствующие метаболическим изменениям (т. е. приводящие к обезвреживанию) этих молекул или обуславливающие уменьшение их липофильных свойств, приводят к ослаблению инсектицидной активности этих соединений [1351].

Для подробного ознакомления с нейротоксичностью инсектицидов см. работу [1436].

## 2. Лекарственные вещества, действующие на другие ткани

Действие некоторых лекарственных веществ на гладкую мускулатуру, по-видимому, не связано с нервными импульсами. Тканевой гормон гистамин (4.3) вызывает сокращение мускулатуры матки и кишечника и расслабление мышц кровеносных сосудов. Синтезировано большое число различных соединений, обладающих превосходным антигистаминным действием (гл. 6, разд. 4). 5-Окситритамин (4.33) — еще один из весьма распространенных в организме гормонов, функции которого мало изучены; он вызывает сильное сокращение гладких мышц.

Другой тканевой гормон, адреналин, вызывает расслабление мышц бронхов и применяется, так же как и его гомолог изопреналин, при астме. Он расслабляет также мышцы желудочно-кишечного тракта и мочевого пузыря, но вызывает сокращение мышц селезенки. Адреналин, оказывающий сосудосуживающее действие на мелкие артерии, вызывает повышение кровяного давления, тем более, что обладает еще и способностью повышать частоту и силу сокращений сердца. В экстремальных условиях адреналин вызывает отток крови от кожи, слизистых и внутренних органов к тем орга-

нам (скелетная и сердечная мышцы, головной мозг и печень), которые испытывают в данный момент потребность в усиленном кровоснабжении. Об адреноблокаторах речь пойдет в гл. 11, разд. 4, а.

Эргометрин (4.30) оказывает сильное стимулирующее действие на гладкую мускулатуру матки и кровеносных сосудов. Папаверин (алкалоид мака) обладает прямым спазмолитическим действием на мышцы. Некоторые простые алифатические амидины, производные гуанидина, изомочевины и изотиомочевины (все это сильные основания), обладают прямым гипертензивным действием и вызывают сокращение мускулатуры кишечника [504]. Эти соединения не ингибируются антигистаминными препаратами.

Гликозиды наперстянки и строфанта действуют непосредственно на сердечную мышцу, увеличивая силу ее сокращений. При этом наблюдается благоприятное побочное действие, в частности на нервную систему. Хинидин и неисчислимо множество других соединений, в которых содержится ароматическое кольцо, связанное мостиком (сложноэфирной, кетонной, эфирной или спиртовой группой) с основной группой, представляя собой ценные терапевтические средства, действующие на некоторые отделы сердца [413] и применяемые при различных нарушениях ритма сердца.

Известно большое число антагонистов гормонов. Так, некоторые из них способны тормозить биосинтез тиреоидных гормонов, ингибируя накопление йода в щитовидной железе, другие же (например, серусодержащие производные пропилтиоурацил и карбимазол) тормозят иодирование тирозина.

Многие лекарственные вещества стимулируют диурез, ибо влияют на процессы выделения и обратного всасывания в почках (гл. 2, разд. 2). Известны вещества, обладающие непосредственным действием на гемопоэз (например, фениндион, варфарин, натриевая и кальциевая соли ЭДТА, амептоптерин), на соединительную ткань (например, салицилаты, преднизолон, кортизон) и на опухоли (гл. 10, разд. 4 и 5).

Для более полного ознакомления с систематической фармакодинамикой мы рекомендуем читателю обратиться к работам Барлоу [109], Гудмена и Джилмена [590], а также Льюиса [907].

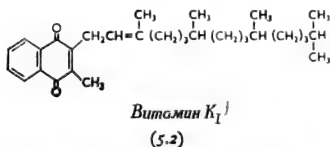
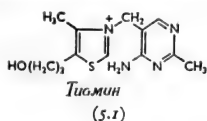
# СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

## ГЛАВА 5

### Химические основы избирательности. Природа связей. Адсорбция

#### Введение

Физиологическое действие сильно зависит от особенностей химической структуры (об одном исключении из этого правила см. гл. 14): даже незначительные вариации в структуре вещества приводят к резкому изменению его биологической активности. Например, витаминная активность (в опытах на голубях) тиамин (5.1) снижается до 5% исходной величины при удалении метильной группы из пиримидинового кольца и до 1% при удалении метильной группы из тиазольного кольца [129]. А если ввести в тиазольное кольцо молекулы тиамин добавочную метильную группу (между атомом азота и атомом серы), то витаминная активность исчезает полностью [159]. Правило, согласно которому любая часть молекулы имеет большое значение для активности соединения, не распространяется обычно на боковые цепи. Например, в молекуле витамина К (5.2) длинную алифатическую цепь в положении 3 можно удалить без ущерба для основной активности витамина.

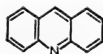


Для синтетических лекарственных препаратов характерна такая же зависимость активности от мельчайших деталей структуры. В молекулу бензолсульфида (5.3) аминогруппа может быть введена в три различных положения, но лишь в одном случае при этом образуется высокоактивное антибактериальное вещество. В молекулу акридина (5.4) аминогруппу

можно ввести в пять различных положений. Три из этих пять аминопроизводных акридина почти полностью лишены активности, в то время как остальные два являются очень сильными антибактериальными агентами. В молекуле хинолина (5.5) оксигруппа может занимать семь различных



(5.3)



(5.4)



(5.5)

положений. Шесть изомерных оксихинолинов оказались совершенно инертными соединениями, а седьмой изомер обнаружил сильное антибактериальное и противогрибковое действие. Следует отметить, что причины, обуславливающие активность одних изомеров и отсутствие активности у других, выяснены и будут изложены в гл. 6 (для сульфамидов), 8 (для акридинов) и 9 (для хинолинов).

В настоящей главе пойдет речь о природе различных химических связей. Особое внимание будет уделено разнообразным формам взаимодействия между агентом и его биологическим рецептором и связанной с этим специфичностью биологически активных веществ. Далее будут приведены некоторые данные об адсорбции, а в конце главы — практические рекомендации по проведению демонстративных экспериментов, иллюстрирующих широкое распространение в природе явлений избирательности и их обусловленность исключительно физико-химическими свойствами вещества.

## 1. Типы химической связи

В прошлом была распространена точка зрения, согласно которой действие одних лекарственных веществ физическое, а действие других — химическое по своей природе. Согласно другой точке зрения, физические свойства лекарственного вещества обеспечивают его доставку к месту действия, а само действие реализуется химическим путем. В этих рассуждениях значение слова «химический» почему-то всегда сводилось к образованию ковалентных связей.

В настоящее время подобное противопоставление понятий «химический» и «физический» представляется лишенным смысла. Ленгмюр [877, 878] показал, что между физическим и химическим существует взаимосвязь: каждое вещество обладает физическими свойствами, и эти физические свойства неизбежно обусловлены особенностями его химической структуры. Таким образом, понятия «физический» и «химический» не могут быть противопоставлены друг другу: они служат проявлениями одной и той же сущности. Например, повышение температуры воды до точки кипения является, казалось бы, простым физическим процессом. Однако, как показал Ленгмюр, при этом происходит деполимеризация, сопровождающаяся разрывом водородных связей, т. е. имеет место химическая реакция.

Появление в 1939 г. книги Полинга «Природа химической связи» [1107] сыграло большую роль в создании системы знаний о различных типах связи между атомами. В настоящее время принято считать, что наиболее важными типами химической связи являются: ковалентные, ионные, ион — дипольные, вандерваальсовы и водородные связи. Образование или разрыв любой из этих связей представляет собой истинную химическую реакцию. Даже вторичные (т. е. нековалентные) связи часто обладают значительным запасом энергии. В конце главы описаны два очень примечательных эксперимента, целиком основанных на образовании вторичных связей.



В табл. 16 перечислены основные типы связей, которые могут быть выведены из основных принципов *квантовой механики*. Ниже следует обсуждение каждого типа связи и некоторые соображения о переносе заряда и гидрофобных связях.

1. *Вандерваальсовы связи*. Этот наиболее универсальный тип связи возникает между любыми двумя атомами, входящими в разные молекулы, коль скоро они окажутся на достаточно близком расстоянии друг от друга. Что же представляют собой обуславливающие эти связи силы? Они возникают вследствие того, что молекулы, даже на низшем энергетическом уровне, обладают еще достаточной энергией, за счет которой атомы, составляющие молекулу, могут колебаться. Временные диполи, образующиеся в атомах под влиянием этих колебаний, индуцируют диполи в других, соседних, моле-

Таблица 16

Некоторые типы связей, играющих важную роль в биологических процессах

Тип связи	Прочность связи, ккал/моль	Примеры
1. Вандерваальсовы связи	0,5 (приблизительно)	$\begin{array}{cc}   &   \\ -N & N- \\   &   \\ -OH \dots O= \\ Na^+ & Cl^- \end{array}$
2. Водородная связь	2—5	
3. Ионная связь	5	
4. Усиленная ионная связь	10	$\begin{array}{c} +H \\ -NH \dots O \\   \quad \quad    \\ H \quad \quad C \\ \quad \quad \quad   \\ \quad \quad \quad O^- \\ \quad \quad \quad   \\ CH_3 - OH \end{array}$
5. Ковалентная связь	40—140	
6. Ион—дипольная и диполь—дипольная связи		

кулах и таким образом между ними в конечном счете возникает притяжение. Силы Ван-дер-Ваальса изменяются обратно пропорционально седьмой степени расстояния, так что они действуют только на очень коротких расстояниях. Так, если расстояние между двумя атомами увеличивается в два раза, то притяжение между ними падает до  $1/128$  исходной величины (сила ионного притяжения снизилась бы при этом только до  $1/4$  начального значения, а величина диполь—дипольного взаимодействия — до  $1/16$ ). Прочность вандерваальсовой связи увеличивается по мере возрастания атомного веса. Для атомов водорода она так мала, что ею можно пренебречь.

При взаимодействии между лекарственным агентом и рецептором силы Ван-дер-Ваальса начинают обычно играть заметную роль в тех случаях, когда атомные веса пар реагирующих атомов достигают величины 12—16. Если конфигурации реагирующих молекул совпадают настолько, что несколько пар атомов молекул оказываются достаточно близко друг от друга, так что между ними существует весьма сильное притяжение, то оно дополнительно увеличивается за счет сил Ван-дер-Ваальса. Таким образом, в результате близкого контакта агента с рецептором между ними может возникнуть очень прочная связь (энергия такой связи составляет 5 ккал/моль).

Аналогичным образом и ионная связь становится более прочной и длительной, если взаимодействие происходит не только за счет зарядов ионов, но и за счет сил Ван-дер-Ваальса, действующих между незаряженными атомами. Вандерваальсовы связи в большей степени, чем ионные, чувствительны к колебаниям температуры [925].

Непосредственно измерить вандерваальсовы силы нельзя, однако соответствующие значения для них можно получить либо методом молекулярных орбиталей, либо как разность между общей суммой сил, действующих между двумя молекулами (или между молекулой и окружающей средой), и всеми остальными силами кроме вандерваальсовых. Из всех действующих между атомами сил с достаточной достоверностью можно вычислить силу ион — ионного, ион — дипольного и диполь — дипольного взаимодействия (понятие «диполь» здесь означает *постоянный* диполь, величина которого, а также ориентация либо известны, либо могут быть легко определены, тогда как вандерваальсовы силы действуют между *осциллирующими* диполями).

Мы предлагаем вниманию читателей два обзора, посвященных внутри-молекулярным и особенно вандерваальсовым взаимодействиям [924, 1147].

2. *Водородная связь.* Атом водорода способен прочно связывать между собой два атома кислорода, атомы кислорода и азота или два атома азота, если для этого существуют достаточно благоприятные стерические условия. Это весьма прочная по сравнению с вандерваальсовой связью, поэтому для ее возникновения не требуется столь тесного соприкосновения между лекарственным веществом и рецептором. Водородная связь возникает только в том случае, если участвующий в ее образовании атом располагается на одной прямой с группой —ОН или —NH и на определенном расстоянии от нее (например, для связи  $O - H \dots O$  это расстояние должно быть равно 2,7 Å).

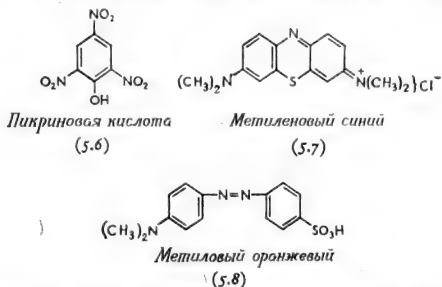
Чем больше различие в сродстве к электрону у двух связанных через водород атомов (даже в тех случаях, когда это атомы одного элемента, например азота), тем прочнее водородная связь. Водородная связь с серой, как правило, является менее прочной, чем с кислородом или азотом. Еще слабее связи водорода с галогенами (за исключением фтора). Водородную связь с углеродом лишь с трудом удается обнаружить. Возникновение водородных связей сопровождается соответствующими изменениями в инфракрасных спектрах, константах ионизации, летучести и температурах плавления. Все эти характеристики используются для изучения водородных связей.

Предполагается, что взаимодействие между антигеном и его антителом происходит исключительно за счет сил с малым радиусом действия, т. е. вандерваальсовых сил и водородных связей [1093].

3 и 4. *Ионные связи* (известные ранее под названием солеобразующих) возникают между ионами, несущими разноименные заряды. Из данных, приведенных в табл. 16, видно, что это очень прочные связи. Однако в биологических средах содержится большое количество различных неорганических солей и велика возможность обмена ионами, поэтому длительность существования ионных связей не превышает  $10^{-5}$  сек. И все же, если наряду с ионным между атомами существует также взаимодействие за счет короткодействующих сил, то связь оказывается более прочной. Так, например, катионы всех аминов, за исключением четвертичных, образуют с анионами карбоновых кислот одновременно и ионные, и водородные связи. Далее, две молекулы могут быть связаны друг с другом ионными силами в какой-либо одной точке и вандерваальсовыми — в другой. При этом значительно возрастают и прочность связи, и время ее существования.

Явление стабилизации ионных пар (т. е. пар противоположно заряженных ионов) за счет короткодействующих сил наглядно демонстрируется с помощью современного метода анализа, известного под названием метода экстракции ионов. Примером может служить количественное определение пикриновой кислоты (5.6) в водном растворе с метиленовым синим (5.7) в качестве индикатора (водный раствор) в присутствии хлороформа. Ни метиленовый синий, ни пикриновая кислота почти не растворяются в хлороформе, тогда как пикрат метиленового синего растворяется в нем хорошо. Конец реакции характеризуется появлением слабого не исчезающего синего

окрашивания в водной фазе [196]. Обычно свойства соли не отличаются от свойств составляющих ее ионов. Однако в тех случаях, когда два иона приходят в непосредственный контакт на значительной площади и оба при этом имеют плоское строение, как это характерно, например, для (5.6) и (5.7), возникающая между ними связь (ионная + вторичные) оказывается столь прочной, что ионы теряют обычно окружающие их молекулы гидратационной воды, и соль становится жирорастворимой. Аналогичным образом катионные органические лекарственные вещества типа мепакрина<sup>§</sup> (8.27) можно определять (в присутствии несмешивающегося с водой растворителя), используя для этой цели окрашенные сульфокислоты, например метиловый оранжевый (5.8) [233] или бромтимоловый синий. Подобные явления экстракции ионов могут служить моделью процессов адсорбции рецепторами катионов лекарственных веществ или проникновения молекул лекарственных веществ через полупроницаемые мембраны с помощью носителей (гл. 2, разд. 2).



5. Ковалентные связи, образующиеся между двумя атомами за счет общей пары электронов, представляют собой наиболее хорошо знакомый химику-органику тип связи, так как большую часть своего времени он затрачивает на создание и разрушение именно этих связей. Ковалентные связи обычно самые прочные из всех нами описанных; поэтому, надо полагать, они лишь в редких случаях принимают участие в образовании связи токсического агента с рецептором. Основанием для такого предположения служит то обстоятельство, что токсическое действие в большинстве случаев оказывается обратимым, если токсический агент удастся своевременно отмыть.

Энергия самой прочной связи, которая поддается расщеплению при комнатной температуре или температуре тела, составляет около 10 ккал. Для разрыва ковалентных связей такой энергии в большинстве случаев недостаточно. О лекарственных агентах, действие которых обусловлено их способностью к образованию ковалентных связей с рецептором, речь пойдет в гл. 10.

Несмотря на то что в биологических системах долговечные, существующие годами, связи, как правило, оказываются именно ковалентными, с физико-химической точки зрения такое положение не является обязательным. Молекула небольшой величины может оказаться в «порах» более крупной молекулы, где она будет удерживаться за счет стерических препятствий и вторичных взаимодействий. В текстильной промышленности эти свойства молекул используются очень широко. Так, например, именно благодаря этому эффекту изделия из хлопка, окрашенные стойкими субстантивными красителями (которые в протраве не нуждаются и имеют такой же молекулярный вес, как обычные лекарственные вещества), не линяют при стирке. См. также разд. 4, опыт 1-й (ниже.)

6. *Ион-дипольные взаимодействия.* Многие из неионизованных молекул обладают дипольным моментом, т. е. некоторые из составляющих их атомов несут частичный (дробный), положительный или отрицательный, заряд. Так, электроноакцепторные группы несут дробный положительный заряд (см. приложение 3). В результате взаимодействия таких дробных зарядов с противоположно заряженными ионами между ними образуются слабые связи, занимающие промежуточное положение между ионными и вандерваальсовыми. До настоящего времени в биологических системах такого типа связи обнаруживались очень редко, хотя более чем вероятно, что роль их достаточно велика. В качестве примеров из области неорганической химии см. (5.12) и (5.13). Пожалуй, самым общеизвестным случаем образования такой дипольной связи можно считать присоединение молекул воды ко всем анионам (и катионам) в водном растворе, за счет чего возникают гидратированные ионы, резко отличающиеся по своим свойствам от соответствующих негидратированных ионов в кристаллах. Еще об одном случае предположительно диполь-дипольного взаимодействия см. гл. 11 разд. 4, 6.

*Перенос электронов.* В молекулах с двумя или более сопряженными двойными связями часть электронов оказывается делокализованной и образует  $\pi$ -электронное облако, охватывающее всю систему сопряженных связей. В результате дальнейшей делокализации, вызванной влиянием сильно поляризуемых заместителей, в этом  $\pi$ -электронном облаке может создаваться дефицит или, наоборот, избыток  $\pi$ -электронов по сравнению с нормальным (т. е. характерным для обычной двойной связи, содержащей два  $\pi$ -электрона) облаком. Поэтому имеет смысл различать (особенно это важно для циклических систем) соединения с дефицитом  $\pi$ -электронов (например, нитробензол и пиридин) и соединения, содержащие избыток  $\pi$ -электронов (например, анлины и пирролы). Соединения с большим дефицитом  $\pi$ -электронов обладают способностью образовывать непрочные комплексы с молекулами, содержащими большой избыток  $\pi$ -электронов. В такой системе из двух молекул имеет место, по-видимому, почти такой же свободный обмен электронами, как между двумя конденсированными кольцами в одной и той же молекуле. Термодинамические основы этого явления неясны, а наглядное выражение оно находит в появлении новых пиков на кривых в ультрафиолетовых или видимых спектрах этих соединений.

Работы по исследованию таких комплексов с переносом заряда получили широкое развитие в течение последних шести лет. Подобный комплекс образует рибофлавин с триптофаном и 5-окситриптамиином. Существует мнение, что связи такого типа могут играть очень важную роль в биологии [1399]. Термин «комплексы с переносом заряда» правильнее применять в том смысле, который ему первоначально придавал Мулликен: комплексы с переносом электронов, временно образующиеся под действием света.

*Гидрофобная связь.* Этот термин был предложен Кауцманом [806] для характеристики вандерваальсовых сил притяжения (между неполяризованными участками двух молекул), возникающих благодаря наличию жесткой структуры в окружающих атомы молекулах воды. Эта структура стабилизирована водородными связями, существующими между молекулами воды. Таким образом, понятие «гидрофобная связь» не предполагает существования каких-либо связей нового типа. Этим термином пользуются в биологической литературе, даже в литературе по химии поверхностных явлений, но в термодинамике и в химической физике он не применяется.

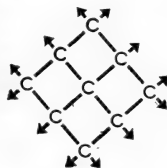
## 2. Адсорбция

Понятие «адсорбция» уже использовалось нами в гл. 3, разд. 6 в связи с вопросами терапевтической интерференции, а также неоднократно подразумевалось в гл. 2. Указывалось и на то, что в основе взаимодействия

лекарственных веществ с рецепторами (гл. 4, разд. 3) также лежат процессы адсорбции. Сейчас, после того как основные типы химических связей охарактеризованы, можно уже более подробно остановиться на этом явлении.

Когда говорят об адсорбции какого-нибудь вещества, то подразумевают, что это вещество обратимо концентрируется на поверхности. Сущность явления адсорбции стала понятной только после работ Ленгмюра [877—879]. В процессах адсорбции принимают участие те же типы связей (в особенности вандерваальсовы, водородные и ионные), которые появляются или исчезают в результате химических превращений, происходящих во всем объеме вещества. Раньше предполагали, что бывает адсорбция «химическая» и адсорбция «физическая», однако с течением времени выяснилось, что любая адсорбция представляет собой химическую реакцию, поскольку все возникающие при этом связи являются химическими.

Поверхность характеризуется двумя особенностями, которые и обуславливают количественные различия, существующие между реакциями, протекающими на поверхности и в растворе. Первая состоит в том, что на поверхности создается 100%-ная концентрация вещества. Так как адсорбированное вещество обладает ничтожной растворимостью (растворимое вещество



Фиг. 30. Остаточные валентности углерода в осколке угля

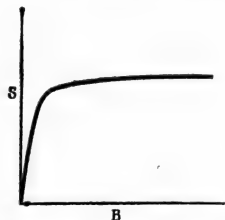
не концентрируется на поверхности), то при такой его концентрации на поверхности вероятность химического взаимодействия очень сильно возрастает. Так, например, концентрация на поверхности кристалла хлорида серебра равна 7 н., в чем легко убедиться, если рассчитать ее исходя из молекулярного веса, тогда как в насыщенном растворе ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) хлористого серебра практически нет.

Вторая особенность, характеризующая поверхность, это наличие ненасыщенных валентностей, которые в массе твердого вещества, т. е. не на поверхности, затрачиваются на связывание между собой одинаковых атомов или молекул. Это обстоятельство поясняет схема, приведенная на фиг. 30. Очевидно, что чем мельче истолчен кусок угля, тем больше в нем будет остаточных валентностей и тем более активным адсорбентом он окажется.

Если адсорбция не сопровождается образованием ковалентных связей, то она представляет собой обычно обратимый процесс; для такого процесса равновесие устанавливается в соответствии с законом действия масс. В 1918 г. Ленгмюр вывел из этого закона уравнение, пользуясь которым можно получить более точные количественные характеристики адсорбции, чем это было возможно до того; это уравнение имеет следующий вид

$$\frac{x}{m} = \frac{abc}{1+ac}$$

Из уравнения следует, что при постоянной температуре отношение веса адсорбированного вещества ( $x$ ) к весу адсорбента ( $m$ ) равно выражению в правой части уравнения, где  $c$  — концентрация неадсорбированного вещества, а  $a$  и  $b$  — константы. Из этого уравнения далее следует, что адсорбент насыщается при высоких значениях  $c$  (так как если  $c$  много больше единицы, то правая часть уравнения становится равной  $b$ ). Эта так называемая «изотерма» графически представляет собой гиперболу (фиг. 31). Совер-



Фиг. 31. Типичная изотерма Ленгмюра.

$S$  — концентрация адсорбированного вещества ( $x/m$ );  $B$  — общая концентрация вещества.

шенно очевидно, что это уравнение имеет универсальное значение и применимо, в частности, к таким общеизвестным явлениям, как присоединение водорода к молекуле аммиака (в результате чего образуется катион аммония) — процесс, который описывается такой же гиперболой и представляет собой простейший случай понойной адсорбции.

При адсорбции лекарственных веществ специфическими рецепторами очень часто наблюдается, что эффект от каждого последующего удвоения дозы становится все менее ощутимым; при этом кривая зависимости эффекта от дозы представляет собой гиперболу [318]. Правда, эти закономерности часто осложняются явлениями, связанными с разложением или потерями лекарственного вещества за счет других механизмов (гл. 2, разд. 3).

Для явлений адсорбции, изучаемых общей химией, экспериментальные данные в преобладающем большинстве случаев хорошо согласуются с закономерностями, выведенными Ленгмюром (изотермы Ленгмюра), при условии, что в результате адсорбции образуется мономолекулярный слой. Известны, однако, и некоторые другие типы адсорбции. Была создана [573] следующая общая система классификации:

1. L-кривые, нормальные изотермы Ленгмюра (фиг. 31), характеризующие адсорбцию молекул, которые ориентированы горизонтально, и имеется небольшое число вертикально ориентированных адсорбированных ионов, прочно связанных друг с другом за счет незаряженных участков. В этом случае чем больше вещества адсорбировано, тем более затруднена дальнейшая адсорбция.

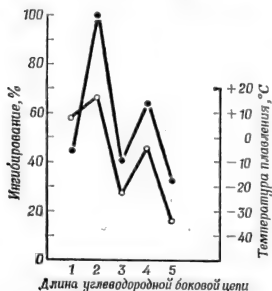
2. S-кривые, указывающие на вертикальную ориентацию адсорбированных молекул. На том этапе, который характеризуется начальным участком этой кривой, чем больше вещества уже адсорбировано, тем легче происходит дальнейшая адсорбция.

3. H-кривые, соответствующие случаю, когда имеет место высокая степень сорбции. На этой кривой начальные значения концентрации твердого адсорбированного вещества очень велики и сходны с теми, которые получаются, когда вещество адсорбируется в форме мицелл или при адсорбции ионов, обладающих высоким сорбционным и способных обмениваться с ионами, обладающими малым сорбционным.

4. C-кривые соответствуют случаю линейной зависимости, существующей между константами распределения в тех случаях, когда вещество проникает в адсорбент легче, чем растворитель.

Некоторые дополнительные биологические аспекты адсорбции. Следует всегда иметь в виду, что белки и другие крупные молекулы в «растворе» находятся в коллоидном состоянии. Подобные суспензии, хотя на взгляд и прозрачны, обеспечивают огромную адсорбционную поверхность. Так, например, поверхность белка, содержащегося в 1 см<sup>3</sup> сыворотки человека, составляет 100 м<sup>2</sup>.

Обычные алифатические кислоты обладают способностью ингибировать активность некоторых ферментов. У тех кислот, которые содержат четное число атомов углерода в боковых цепях, эта способность выражена гораздо сильнее, чем у кислот с нечетным числом атомов углерода. Температуры плавления алифатических кислот с четным числом атомов углерода



Фиг. 32. Ингибирование фермента алкогольдегидрогеназы алифатическими кислотами.

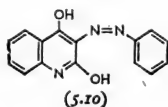
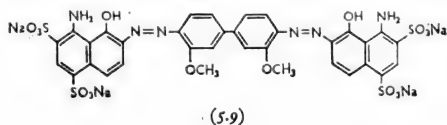
Верхняя кривая иллюстрирует максимальное ингибирование фермента 0,5 М раствором кислоты. Нижняя кривая — температуры плавления.

выше, что свидетельствует о наличии явлений самоадсорбции; отсюда следует, что процессы самоадсорбции и адсорбции на ферментах в этих случаях изменяются параллельно (фиг. 32) [1470].

### 3. Некоторые небιологические примеры химической специфичности

Эту главу очень уместно завершить описанием некоторых легко осуществимых экспериментов из области прикладной химии. С помощью этих экспериментов можно продемонстрировать, что химическую специфичность, сравнимую с той, которая свойственна лекарственным веществам, обнаруживают и простые неорганические соединения. Поэтому для объяснения действия лекарственных агентов и других биологически активных соединений нет надобности предполагать существование каких-либо новых типов связей.

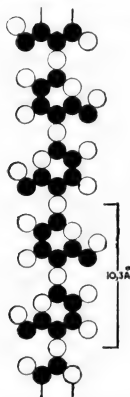
Примеры были нами взяты из двух областей прикладной химии — крашения и флотации, в которых используются химические реагенты, обладающие достаточно высокой избирательностью в отношении очень сходных между собой веществ. Подобные исследования химической природы избирательности имеют непосредственное отношение к изучению проблем, связанных с избирательной токсичностью, и могут оказаться полезными при разрешении некоторых очень важных вопросов в этой области.



Первый эксперимент — одновременное окрашивание в разные цвета двух химически родственных тканей, которое производится в одной ванне. Для этого достаточно взять два образца ткани, одинаковые по величине и весу, из которых один состоит из целлюлозы (хлопка или вискозы), а второй — из ацетилцеллюлозы. Оба кусочка ткани можно шить. Ткань не нужно ни протравливать, ни подвергать какой-либо другой предварительной обработке. Ее просто погружают в ванну, которая содержит два простых, сходных между собой по структуре азокрасителей в соотношениях, указанных ниже, в разд. 4, и нагревают при 80° в течение 10 мин. Один из красителей, хлоразол небесно-голубой FFS (5.9), очень хорошо растворим в воде и обладает выраженным сродством к целлюлозе. Второй краситель, дисперсол желтый 3G (5.10), плохо растворим в воде и обладает хорошо выраженным сродством к ацетилцеллюлозе. При этом ни один из красителей не обнаруживает сколько-нибудь заметного сродства к волокну другой ткани. После извлечения ткани из ванны можно видеть, что целлюлозная ткань окрасилась в чисто голубой цвет, а ацетилцеллюлоза — в чисто желтый. Получилось таким образом, что каждый из этих двух видов ткани прореагировал избирательно только с одним из красителей и не был затронут действием

другого. Если рассмотреть структуру волокна целлюлозы (фиг. 33), то можно убедиться, что оно состоит из плотно упакованных, почти плоских, удлиненных молекул, которые располагаются слоями. В каждой молекуле при этом содержится большое число заместителей, способных к образованию водородных связей. Поэтому нет ничего удивительного в том, что молекулы водорастворимых красителей, обладающих средством к непротравленной целлюлозе, в большинстве случаев также плоские, имеют удлиненную форму и содержат многочисленные заместители, способные образовывать водородные связи [880, 1273]. Именно эти свойства и характерны для хлорозола небесно-голубого.

Что касается ацетилцеллюлозы, то у нее из каждых шести гидроксильных групп пять блокированы в результате ацетилирования, поэтому молекула этого эфира приобретает липофильные свойства. Таким образом, становится понятным, почему красители, обладающие средством к ацетилцеллюлозе, в большинстве случаев не растворяются в воде, но очень хорошо растворяются в эфирах. Взаимодействие таких красителей с волокном осуществляется уже не за счет групп, образующих водородные связи, и потому присутствие таких групп в молекуле ацетилцеллюлозы не только необязательно, но и невыгодно (установлено, например, что введение в молекулу красителя всего лишь одной сульфогруппы приводит к утрате средства к ацетилцеллюлозе). Более подробные сведения о связи между строением и избирательными действиями этих красителей читатель найдет у Лэпуорта [880] и Грина [610].



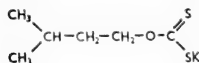
Фиг. 33. Строение целлюлозы (проекция атомных молекул).

Второй эксперимент демонстрирует разделение смеси минералов методом флотации. Красную ртутно-сульфидную и зеленую медно-силикатную руды (предварительно измельченные под водой) помещают в цилиндр. При встряхивании цилиндра, которое продолжается до тех пор, пока не образуется пена (через некоторое время исчезающая), ни один из компонентов смеси не поднимается с пузырьками воздуха на поверхность. Достаточно, однако, прибавить к смеси даже ничтожное количество (1 часть на 100 000) амилксантогената калия (5.11) и вновь встряхнуть цилиндр, как ртутная руда поднимается на поверхность, тогда как медная остается на дне. Совершенно очевидно, что ксантогенат в данном случае сыграл роль «коллектора», так как обладает специфическим средством к атомам ртути и успешно конкурирует с гидроксил-ионами, с которыми атомы ртути были связаны в воде; надо иметь в виду, что новые поверхности, образующиеся под водой, имеют измененные по сравнению с обычными структуры, так как в этих условиях многие из атомов соединяются с ионами водорода и гидроксил-ионами за счет ион-дипольных взаимодействий, как, например, в (5.12). Как только гидрофильные гидроксил-ионы, расположенные на поверхности ртутной руды (5.12), замещаются гидрофобными ионами ксантогената с образованием (5.13), частицы руды увлекаются пузырьками воздуха и поднимаются вместе с ними на поверхность. Ионы ксантогената не обнаруживают средства к медной руде, частицы которой, равномерно покрытые водой, на поверхность не всплывают. Анионы олеиновой и стеариновой кислот обладают выраженным средством по отношению ко всем рудам, содержащим металлы, что позволяет использовать их для отделения этих руд от кварца. Если к содержимому нашего цилиндра прибавить следы мыла и повторить встряхивание, то вместе с пузырьками воздуха на поверхность всплывают частицы как медной, так и ртутной руды. Эти и подобные им методы хорошо знакомы



каждому горному инженеру и в огромных масштабах применяются в практике горного дела. Для более подробного ознакомления с этими вопросами см. [718, 1395].

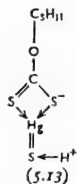
Оба описанных эксперимента показывают, как можно найти вещества, обладающие такой высокой избирательностью действия, что их можно использовать для разделения очень близких по структуре химических соединений. Подобных примеров можно привести множество. Так, высокая избирательность характерна для окиси алюминия и карбоната кальция, применяемых в хроматографии. Не менее показательный пример — повязки, пропитанные латексом, частицы которого между собой склеиваются, а к коже не пристают.



(5.11)



(5.12)



(5.13)

Чем разнообразнее источники, из которых мы черпаем новые примеры, иллюстрирующие явления химической избирательности, тем легче нам ориентироваться в вопросах, связанных с механизмами избирательного действия лекарственных и иных агентов.

#### 4. Эксперименты, иллюстрирующие явления избирательной адсорбции

##### 1. Избирательное окрашивание

Кусок вязкой ткани (весом около 20 г и площадью 1100 см<sup>2</sup>) спивают с таким же куском ткани из ацетилцеллюлозы.

Готовят раствор хлоразола небесно-голубого FFS (понтанин небесно-голубой 6BX), растворяя 0,5 г красителя в 100 мл кипящей воды.

Готовят суспензию дисперсола желтого 3G<sub>300</sub> (ацетамин желтого CG); для этого 0,5 г красителя растирают с небольшим количеством воды, полученную пасту разбавляют водой до 50 мл, добавляют неионогенный диспергирующий агент (например, 8 мл дисперсола VL) и объем раствора доводят водой до 100 мл.

Готовят красильную ванну; для этого по 25 мл раствора каждого из красителей смешивают при 85° с небольшим объемом водного раствора, содержащего 8 г NaCl и 0,5 г какого-нибудь анионогенного смачивающего агента (например, типоло).

Ткань погружают в красильную ванну при 80° и осторожно перемешивают в течение 10 мин, следя за тем, чтобы ткань была покрыта красильным раствором (опыт будет испорчен, если температура повысится до 90° даже на отдельных участках ткани, так как при этом происходит гидролиз с образованием целлюлозы).

Ткань вынимают из ванны с помощью стеклянных палочек и погружают в холодную воду (1 л), затем отжимают и развешивают для просушки. Вискоза оказывается окрашенной в чисто голубой цвет, а ацетилцеллюлоза — в чисто желтый.

## 2. Флотация минералов

Всю аппаратуру предварительно промывают хромовой кислотой, так как в присутствии даже следов жира всплывут оба минерала. Красную ртутно-сульфидную руду (киноварь) и зеленую медно-силикатную руду перемалывают отдельно в дробилке *под водой*. Полученные суспензии пропускают через сито (около 70 меш). Далее суспензии необходимо освободить от оставшихся в них очень мелких частиц декантацией. В течение *всего времени эксперимента* твердые частицы минералов должны оставаться увлажненными.

По 1 г каждого из минералов засыпают в закрытые пробкой цилиндры (100 мл), содержащие 100 мл воды и 0,1 мл амилового спирта. В один из этих двух цилиндров прибавляют 1 мг (не более) амилксантогената калия.

Оба цилиндра встряхивают в течение нескольких минут рукой, держа их в горизонтальном положении; затем цилиндры ставят вертикально. Можно видеть, что в цилиндре, содержащем ксантогенат, красная руда всплывает, а зеленая остается на дне. В другом цилиндре оба минерала остаются на дне.

## Метаболиты, антиметаболиты и ферменты

## Введение

В самом начале гл. 5 были рассмотрены некоторые случаи коренных изменений биологической активности избирательно действующих токсических агентов — изменений, связанных с незначительными вариациями их химической структуры. В настоящей главе мы более подробно проанализируем один из таких случаев высокой специфичности, обусловленной сходством между структурой нормального субстрата какого-либо фермента и структурой агента, действующего как ингибитор (этого фермента). С другой стороны, такое структурное сходство может существовать между агентом и коферментом. И эти субстраты, и коферменты мы будем называть далее *метаолитами*.

Процессы роста и деления обуславливают в клетках состояние непрерывной химической активности. В преобладающем большинстве случаев эта активность принимает форму химических реакций между ферментами и субстратами. Ферменты при этом остаются неизменными, субстраты же превращаются в другие метаболиты в результате процессов, сопровождающихся разрывом и образованием ковалентных связей. Органические коферменты при своем функционировании также подвергаются подобным изменениям. Так, например, никотинамидадениндинуклеотид сначала присоединяет, а затем теряет атом водорода у атома углерода в положении 4. Аналогичным образом дифосфотиамин сначала присоединяет ацетильную группу к атому углерода в положении 2, а затем ее теряет.

**Ферменты.** Ферменты — это белки. Из коферментов (кофакторов) некоторые представляют собой неорганические катионы, но большинство из них — это простые по структуре органические вещества, синтезирующиеся либо в данном организме, либо в каком-то другом — тогда они попадают в данный организм с пищей. К субстратам относятся: а) либо сама пища, б) либо простые молекулы, образующиеся из пищи под действием других ферментов (деструктивных или синтезирующих). Белковая часть фермента носит название *апофермента*. Не все ферменты нуждаются в кофакторах [345]. Около 880 различных ферментов было известно к 1965 г., из них около ста были выделены в кристаллическом виде (данные Комиссии по ферментам, 1965 г.). В настоящее время число известных ферментов значительно возросло, в частности благодаря тому, что многие ферменты могут существовать в виде многочисленных *изоферментов*.

Жизненно важная роль ферментов в метаболизме заключается в том, что они ускоряют химические реакции, протекающие в клетке. Ферменты снижают энергетический барьер, который необходимо преодолеть в ходе реакции. Фермент каталаза, например, снижает энергию активации в реакции разложения перекиси водорода ( $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O$ ) с 18 до 2 *ккал/моль* и увеличивает скорость этой реакции в  $1,6 \cdot 10^{11}$  раз.

Конечные продукты различных последовательностей реакций могут блокировать действие первого фермента этих последовательностей, и в системе таким образом оказывается возможным саморегулирование (см. ниже). В настоящее время считается, что ферменты, функционально связанные между собой в метаболической цепи превращений, сгруппированы в клеточных частицах или встроены в мембраны; при этом между ферментами

существует тесная механическая взаимосвязь [429]. В митохондриях имеются три основные полиферментные системы: система окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи, цикл трикарбоновых кислот и система  $\beta$ -окисления жирных кислот. Ферменты в каждой из этих систем связаны друг с другом химически, термодинамически и стерически. Следовательно, как только образуется продукт реакции, катализируемый первым ферментом, он тотчас же может стать субстратом для следующего фермента и т. д.

Фермент и субстрат (а также кофермент, если он имеется) образуют в процессе реакции комплекс. Многочисленные доказательства существования таких комплексов были получены методом ультрафиолетовой и видимой спектроскопии, и по крайней мере в одном случае этот комплекс был выделен. Речь идет о комплексе D-аланина, оксидазы D-аминокислот и кофактора ФАД (рибофлавинадениндинуклеотид). Этот комплекс был выделен в виде гексагональных кристаллов пурпурного цвета, устойчивых в отсутствие воздуха. Исследования методом электронного парамагнитного резонанса (гл. 13) показали, что в этих кристаллах кофактор существует в свободнорадикальной моногидроформе (ФАД·Н) [1590, 1591].

Считается, что особые свойства ферментов определяются третичной структурой ферментных белков, которая обеспечивает объединение отдельных групп, расположенных в различных точках цепи, в активный центр. Например, действие фермента лизоцима на его субстрат (мурен, см. гл. 1, разд. 3, а) реализуется только при условии, что остатки аминокислот № 35 (глутаминовая кислота) и № 52 (аспарагиновая кислота), находящиеся в разных цепях молекулы фермента, оказываются сближенными [1139]. Для выявления деталей третичной структуры потребовался большой объем исследований методом рентгеноструктурного анализа. Несмотря на то что прогресс в этой области неизбежно идет медленно, в настоящее время почти полностью установлена структура рибонуклеазы,  $\alpha$ -химотрипсина, лизоцима и карбоангидразы человека (гл. 1, разд. 4, б).

Сравнительно недавно удалось подробно изучить строение карбоксипептидазы А, важного фермента поджелудочной железы, гидролизующего только те пептиды, которые содержат гидрофобные боковые цепи. Было обнаружено, что атом цинка (необходимый кофактор) карбоксипептидазы А находится в углублении на поверхности молекул, в непосредственной близости от глубокой липофильной полости. На молекулярных моделях удалось показать, что бензольное кольцо глицил-L-фенилаланина (типичный субстрат) помещается как раз в этой полости, прижимая карбонильный атом кислорода дипептида к атому цинка [916]. Для изучения химотрипсина использовали его О-ацилированное производное. Методом ультрафиолетовой спектроскопии было показано, что остаток серина и, по всей вероятности, также остальная часть активного центра этого фермента располагаются в глубокой липофильной складке [795].

Все известные ферменты — это белки. Удалось, однако, осуществить синтез нескольких простых по структуре небелковых модельных соединений, способных выполнять функции ферментов. Наилучшим из таких веществ являются в настоящее время циклоамилазы (циклодекстрины), полученные посредством деградации крахмала [365]. Циклогексаамилаза служит эффективной эстеразой различных замещенных фенилацетатов [151]. По данным рентгеноструктурного анализа, молекула этой амилазы представляет собой тор, внутренний диаметр которого составляет около 5 Å. Этот тор образован шестью единицами  $\alpha$ -D-глюкозы обычной конформации; гидроксильные группы расположены в виде «короны» на противоположных сторонах тора. Карбонильная группа ацетата прижата к вторичным гидроксильным группам амилазы: чем теснее этот контакт, тем быстрее проходит гидролиз. Сложный эфир ацилирует одну из гидроксильных групп амилазы; при этом высвобождается фенол. Затем в результате внутримолекулярного катализа

происходит регенерация амилазы в неацилированную форму, и цикл, таким образом, может повторяться многократно. Цикл этот напоминает ферментативные превращения еще и тем, что он подчиняется кинетике Михаэлиса — Ментен (разд. 1 настоящей главы) и, кроме того, легко ингибируется аналогами нормальных субстратов.

На этом примере видно, что ферментативноподобная активность может быть свойственна и веществам с молекулярным весом несколько ниже 1000, имеющим весьма простую и симметричную структуру.

Однако вернемся к истинным ферментам. Для идентификации их активных центров часто используют реагенты, способные образовывать с ними прочную ковалентную связь. С этой целью, в частности, широко применялись органические фосфаты (гл. 10). Так, например, диизопропилфторфосфат (10.16), взаимодействуя с химотрипсином, фосфоалкилирует его по активному центру, вследствие чего взаимодействие с истинным субстратом становится невозможным. Было обнаружено, что в каждой молекуле фермента с активным центром взаимодействует одна молекула ингибитора.

В результате гидролитического расщепления ингибированного фермента образуется диизопропилфосфорилированный серин. Из этого следует, что в активном центре химотрипсина важную роль играет остаток серина [1263, 1264].

Анализ продуктов расщепления показал, что активный центр химотрипсина (его молекула состоит из 230 аминокислот, из которых 28 — это остатки серина) и трипсина содержит последовательность аспарагин — серин — глицин, тогда как в активных центрах ацетилхолинэстеразы, псевдохолинэстеразы и алиэстеразы печени присутствует последовательность глутамин — серин — аланин. Таким же образом было установлено, что последовательность треонин — серин — метионин характерна для активного центра бактериального субтилизина и протеазы *Aspergillus*, изолейцин — серин — валин — для  $\alpha$ -фосфоорилазы, а аланин — серин — гистидин — для фосфоглюкомутазы [1255]. Кристаллическая рибонуклеаза — фермент, который в биологических системах деполимеризует РНК — содержит всего 124 аминокислоты, последовательность которых полностью установлена. Результаты экспериментов с использованием блокирующих агентов позволяют предположить, что в состав активного центра рибонуклеазы входят один остаток метионина № 13 и два остатка гистидина (№ 12 и № 119). Эти остатки оказались сближенными только благодаря сложному свертыванию молекулы белка с образованием третичной структуры [710].

В естественных условиях функционирование ферментов часто регулируется благодаря аллостерическому эффекту. У ферментов, катализирующих начальные реакции в цепи метаболических превращений, имеется рецептор, — он располагается на некотором расстоянии от рецептора для нормального субстрата, — способный реагировать с природным ингибитором (в большинстве случаев роль такого ингибитора играет продукт ферментативной реакции, образующийся на более поздней стадии ферментативных превращений). В результате взаимодействия этого рецептора с ингибитором молекула фермента претерпевает конформационные изменения, в результате которых его активный центр становится недоступным для нормального субстрата. Подобный механизм обратной связи играет важную роль в саморегуляции метаболических процессов в клетке [1017, 1245]. Существует мнение, что аллостерический эффект по крайней мере в некоторых случаях обусловлен явлением олигомерии, т. е. хорошо известной тенденцией молекул фермента к образованию ассоциатов из идентичных молекул. При этом активные группировки могут оказаться недоступными для субстрата. Впоследствии, однако, они вновь высвобождаются в результате диссоциации [1018].

В основе механизма действия многих лекарственных веществ и других биологически активных соединений лежит их способность ингибировать определенный фермент. Однако для того чтобы иметь право утверждать, что в том или ином случае действительно функционирует этот механизм, необходимо убедиться в следующем [733]:

а) фермент в интактной клетке ингибируется так же эффективно, как изолированный фермент;

б) концентрации агента, необходимые для ингибирования фермента, не превышают обычных, т. е. тех, которые оказывают фармакологическое действие на клетку.

Основываясь на этих стандартных требованиях, удалось показать, что в основе механизма биологического действия органических фосфатов, а также уретанов, лежит их способность угнетать активность ацетилхолинэстеразы, а действие оксимов (антидоты) состоит в том, что они снимают это ингибирование (гл. 10, разд. 3). Можно во всяком случае считать, что некоторые из основных биологических эффектов, обусловленных действием гидразидов и ацетазоламида, связаны с их способностью угнетать активность моноаминоксидазы (в первом случае) и ангидразы угольной кислоты (во втором). Подобный механизм действия для этих соединений достоверно доказан. Из агентов, подавляющих активность ферментов, наибольший интерес представляют те, которые обнаруживают близкое сходство (как структурное, так и по характеру распределения электронов в молекулах) с нормальным субстратом или коферментом соответствующего фермента. Такие вещества, аналоги метаболитов, называют *антиметаболитами*. Далее в настоящей главе речь будет идти главным образом об этих соединениях.

Для более подробного ознакомления с ферментами см. книгу Диксона и Уэбба [430]<sup>1</sup>, а также два многотомных издания — Бойер и др. [211] и Коловик и Каплан [343].

### 1. Аналоги метаболитов; определение, способы получения и механизм действия

Активность метаболитов (субстратов или коферментов), содержащихся в клетке или ткани лишь в незначительных количествах, может быть подавлена в результате действия веществ, являющихся аналогами этих метаболитов. В молекулах аналогов имеется участок, подобный соответствующему участку в молекуле метаболита, за счет которого происходит взаимодействие последнего с ферментным белком. При этом сходство не должно ограничиваться только размерами молекулы, но должно также распространяться и на характер распределения электронов, поскольку известно, что активные центры фермента сильно поляризованы. Антагонистическое действие аналога состоит в том, что он занимает и тем самым блокирует участок фермента, предназначенный для связи с метаболитом (см. ниже, разд. 2).

Метаболит может быть превращен в соответствующий аналог в результате незначительного изменения химической структуры его молекулы. Слишком сильное изменение структуры метаболита влечет за собой утрату нормальной активности, но не сопровождается превращением метаболита в антагонист. Различные эксперименты по изменению структуры молекулы тиамина путем введения или удаления дополнительной метильной группы приводили к заметному снижению активности этого витамина (гл. 5, введение), не сопровождаясь появлением антагонистических свойств. Вообще

<sup>1</sup> Русский перевод второго издания: Диксон М., Уэбб Э., Ферменты, изд-во «Мир», М., 1966. Можно рекомендовать также книгу Кретиона В. Л., Введение в энзимологию, изд-во «Наука», М., 1967. — Прим. ред.

говоря, удаление или введение метильной группы — это изменение весьма радикальное, поэтому нельзя рассчитывать создать таким способом антагонист.

Однако в некоторых случаях антагонистами оказываются крайне простые по своей структуре соединения и то обстоятельство, что они могут служить аналогами метаболитов, зачастую остается незамеченным. Неорганические катионы конкурируют с другими неорганическими катионами (гл. 6, разд. 2 и гл. 9, разд. 1). Даже ион водорода, сам по себе очень важный метаболит, конкурирует с органическими и неорганическими катионами (гл. 8, разд. 3, а). Этиловый спирт, принимаемый внутрь со спиртными напитками, конкурирует с водой (во всяком случае при распределении). Этиловый спирт служит антагонистом также по отношению к метанолу (снямая токсическое действие последнего), ибо вытесняет его с фермента, окисляющего метанол [1213].

Можно привести и некоторые примеры конкуренции между простыми анионами. Так, например, под влиянием перхлорат- и тиоцианат-анионов тормозится накопление иодид-анионов в щитовидной железе. При этом, однако, процесс окислительного включения иодид-анионов в молекулу тироксина несколько не нарушается [1362, 1449]. Аналогичным образом активность бактерий *Nitrobacter* (окисляющей нитриты в нитраты) угнетается в присутствии цианат- или хлорат-анионов. Однако этот эффект легко снимается простым промыванием [893].

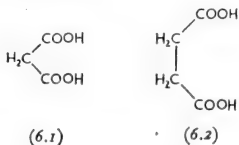
Некоторые физиологические процессы регулируются парами аналогов (в качестве примера можно привести полиеновые половые гормоны водорослей [862] и половые гормоны млекопитающих). Из двух простагландинов, содержащихся в легких человека, один,  $\text{PGE}_2$ , расслабляет мускулатуру бронхов, а второй,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , вызывает ее сокращение [1397].

Известно небольшое число примеров создания молекул антагонистов путем изменения порядка расположения заместителей у асимметрических атомов углерода. Так, например, D-гистидин ингибирует фермент гистидазу, которая в норме вызывает размыкание имидазольного кольца L-гистидина [457]. Этот метод лишь в редких случаях оправдывает себя в применении к молекулам небольших размеров, так как в результате перегруппировки заместителей изменяется пространственное соответствие, обеспечивающее возможность адсорбции на ферментах. По этой причине смесь двух оптических антиподов (рацемат) обнаруживает, как правило, активность, равную среднему арифметическому активностей обоих компонентов. Так, в частности, обстоит дело с атропином и адrenalином. Антагонистические эффекты в этих случаях не обнаруживаются. Гораздо лучший метод создания антагонистов — использование для этой цели молекул, имеющих определенное сходство с каким-нибудь повторяющимся элементом в структуре более крупной молекулы метаболита. Еще в 1910 г. было обнаружено, что амилаза, которая в нормальных условиях гидролизует крахмал, сильно ингибируется декстрином и мальтозой (т. е. продуктами действия амилазы на крахмал), а также глюкозой. Эти углеводы-ингибиторы имеют конфигурацию, сходную с конфигурацией структурной единицы, полимером которой является крахмал. В то же время галактоза и манноза, стереоизомеры глюкозы, служат более слабыми ингибиторами, а изомер (но не стереоизомер) глюкозы фруктоза и вовсе не оказывает ингибирующего действия [1564].

В некоторых случаях антагонистами небольших по размерам молекул являются их ближайшие гомологи. Например, малоновая кислота (6.1) препятствует окислению янтарной кислоты (6.2) сукцинатдегидрогеназой [1169].

Еще один прием, используемый для создания антагонистов-аналогов, состоит в том, что небольшие изменения вносятся в структуру кольца. Так, например, антагонист биотина (витамина) был получен путем замены в его молекуле атома серы на кислород, а антагонист тиамина — путем замены

атома серы на этиловую группу (см. ниже). А сильным антагонистом фенилаланина (как было показано в опытах на микроорганизмах) оказался тенилаланин, т. е. вещество, образующееся в результате замены этиленовой группировки на серу [427].



В то же время замена, скажем, бензола тиюфеном не всегда дает нужный результат. Например,  $\alpha$ -тенилалкиламины по своей гипертензивной активности сходны с соответствующими фенилалкиламинами, а 2-теновые эфиры алкиламинов в качестве местноанестезирующих средств сходны с соответствующими бензойными эфирами; так, метиловый эфир 2-теноилэктогина сходен по своему действию с кокаином, который представляет собой метиловый эфир бензоилэктогина.

Наилучшим из известных в настоящее время общих методов создания антагонистов является замена одной электроноакцепторной группы на другую. Так, например, группа  $\text{COOH}$  может быть замещена группами  $\text{COCH}_3$ ,  $\text{SO}_2\text{OH}$  или  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ . При этом, однако, надо иметь в виду, что подобное замещение не должно сопровождаться изменением степени ионизации имеющейся в молекуле основной группы. Так, например, аминогруппа в анионе *n*-аминобензойной кислоты (6.8) не ионизована, поэтому замена карбоксильной группы на остаток сульфокислоты недопустима, так как это вызвало бы ионизацию аминогруппы, и новое соединение слишком резко отличалось бы от исходной *n*-аминобензойной кислоты, для того чтобы служить антагонистом. Справедливость этого предположения была подтверждена экспериментально. Прекрасным антагонистом *n*-аминобензойной кислоты (аниона) (6.8) оказался сульфаниламид (анион) (6.9) (см. ниже, разд. 3).

В некоторых случаях удавалось получать антагонисты путем замены водорода на фтор. Так, например, *n*-фторфенилаланин служит антагонистом фенилаланина, а фторлимонная кислота — антагонистом лимонной (гл. 10, разд. 5). Аналогичным образом часто эффективной оказывается замена метильной группы на атом хлора, как в антагонистах рибофлавина [863]. Из данных, приведенных в табл. 17, явствует, что подобная замена оправдана стерическими соображениями. Из этих данных становится также понятным, почему замена атома водорода метильной группой или хлором обычно не приводит к образованию эффективных антагонистов.

Таким образом, существуют разнообразные способы изменения структуры молекул метаболитов с целью их превращения в аналоги с антагонистическим действием. Общей для всех подобных аналогов особенностью является то, что действие их основано на «антагонизме посредством замещения». Молекулы этих аналогов по своей структуре должны так мало отличаться от субстрата, что фермент использует эти чужеродные молекулы вместо субстрата. В то же время аналог должен в достаточной степени отличаться от метаболита, для того чтобы он не мог функционировать в качестве субстрата. Иначе говоря, необходимо, чтобы такой аналог либо был неспособен вступать в очередную химическую реакцию, в которой участвует нормальный субстрат, либо если реакция все же произойдет, чтобы в результате образовался продукт, неприемлемый для фермента, катализирующего последующий этап процесса.



Таблица 17

Вандерваальсовы радиусы некоторых заместителей, играющих важную роль в механизме действия антагонистов метаболитов

Заместитель	Радиус, Å
H	1,2
F	1,35
Cl	1,8
CH <sub>3</sub>	2,0

Аналоги с антагонистическим действием были обнаружены почти для всех известных в настоящее время витаминов. Так, в результате замены в молекуле тиамина (5.1) тиазольного кольца пиримидиновым, содержащим те же заместители, получается вещество (пиритиамин), которое вызывает у мыши симптомы тиаминовой недостаточности [1548, 1578]. Ниже будут приведены дополнительные данные о тиамине. В опытах на бактериях *E. coli* и *L. leichmannii* [1112] было обнаружено, что аналоги витамина В<sub>12</sub>, не содержащие кобальта, оказываются активными его антагонистами.

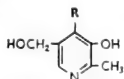
Дезоксипиридоксин [(6.3), R = CH<sub>3</sub>] вызывает характерные признаки недостаточности витамина В<sub>6</sub> (у человека, цыплят и крыс), которая легко снимается при введении витамина [(6.3), R = —CH<sub>2</sub>OH] [479, 1027]. Ясно, что для большинства витаминов существует не один, а несколько антагонистов. Были также найдены аналоги-антагонисты аминокислот, пуринов, пиримидинов, некоторых гормонов и кислот цикла Кребса. Многие из этих аналогов оказались также ингибиторами для микроорганизмов.

По всей видимости, существование аналога с антагонистическим действием возможно для любой молекулы, как бы велика она ни была. Так, в результате ацетилирования тиреотропного гормона (ТТГ), который представляет собой один из белков гипофиза, получается аналог, обладающий способностью накапливаться в щитовидной железе и снижать гипертиреозидизм, блокируя действие ТТГ [1356].

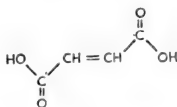
В ряде случаев известно место действия антагонистов. Так, например, пиритиамин вытесняет тиамин из комплекса с ферментом, катализирующим фосфорилирование тиамин с образованием кофермента [этот кофермент содержит пирофосфатный анион, который образует эфирную связь со спиртовой группой тиазольного кольца, см. (5.1)]. Другой антагонист тиамин, известный под названием окситиаминдифосфата, по-видимому, препятствует утилизации этого кофермента [487]. Известно, далее, что дезоксипиридоксин [(6.3), R = —CH<sub>3</sub>] не обнаруживает активности до тех пор, пока не произойдет фосфорилирование его в организме животных, в результате чего образуется производное, конкурирующее с пиридоксальфосфатом — коферментом декарбоксилаз аминокислот [1580].

Установленный Вудсом механизм действия сульфамидных препаратов на бактерии (см. ниже, разд. 3) натолкнул Филдса [517] на мысль о необходимости начать интенсивные поиски антагонистов метаболитов в расчете на то, что эти соединения окажутся полезными для лечения различных заболеваний. Это оказалось делом нелегким, потому что по характеру метаболических превращений полезные и вредные клетки отличаются друг от друга очень незначительно. На первых порах успешное развитие получило направление исследований, связанное почти исключительно с лекарственными веществами, принадлежащими к группе соединений антагонистов фолиевой кислоты. Сульфамидные препараты относятся к одной из нескольких известных групп соединений этого типа (разд. 3). Однако мало-помалу

были открыты антагонисты многих других метаболитов, нашедшие себе полезное применение.



Пиридоксин ( $R = -CH_2OH$ )  
(6.3)



Фумаровая кислота  
(6.4)

Опыт последних двадцати лет свидетельствует о том, что химику, который изменяет структуру метаболита, с тем чтобы превратить его в соответствующий аналог, редко удается таким способом получить эффективное лекарственное средство. Чаще всего новое вещество оказывается антагонистом этого метаболита как в полезных, так и во вредных клетках. В то же время вероятность получения активного лекарственного вещества или другого биологически активного соединения значительно возрастает, если при этом руководствоваться данными сравнительной биохимии, используя сведения о биохимических различиях между этими двумя видами клеток. Следует, однако, отметить, что аналоги метаболитов, не обладающие избирательным действием, сыграли огромную роль в выяснении механизмов метаболических процессов и тем самым значительно способствовали расширению наших знаний в самых разных областях биохимии.

Вопросы, посвященные антагонистам метаболитов в самом широком смысле этого слова, т. е. связанные не только с проблемой избирательной токсичности, рассмотрены в обзорах [697, 1579].

**Количественные аспекты.** Взаимоотношения, существующие между метаболитами и их аналогами, обычно имеют конкурентный характер. Это означает следующее: если для подавления активности  $x$  молекул метаболита требуется  $y$  молекул аналога-антагониста, то для достижения такого же биологического эффекта для  $10x$  молекул метаболита потребуется  $10y$  молекул аналога и т. д. Так как подобные конкурентные отношения полностью обратимы, антагонистическое действие, которое оказывают  $y$  молекул аналога на  $x$  молекул метаболита, снимается при добавлении еще  $x$  молекул метаболита, и т. д. Подобные конкурентные взаимоотношения существуют между малоновой и янтарной кислотами, а также между сульфаниламидом и *p*-аминобензойной кислотой<sup>1</sup>.

Для каждой пары веществ существует свой специфический для этой пары индекс ингибирования, равный отношению числа молекул аналога к числу молекул метаболита, при котором достигается 50%-ное торможение. Это соотношение имеет различные значения для разных биологических видов, однако для каждого вида оно всегда одно и то же. Совершенно ясно, что это соотношение характеризует относительное средство аналога и метаболита к рецептору. Индекс ингибирования отражает также различия в способности обоих веществ проникать к месту действия, если оно трудно доступно. Таким образом, можно считать, что вызываемое аналогом ингибирование определяется двумя факторами: во-первых, относительным средством аналога и метаболита к рецептору, и, во-вторых, относительными количествами аналога и метаболита в сфере реакции.

<sup>1</sup> На русском языке издан перевод книги В у л л и Д. «Учение об антиметаболитах». ИЛ, М., 1954. Следует указать еще на монографию У э б а Л. «Ингибиторы ферментов и метаболизма», изд-во «Мир», М., 1966. — Прим. ред.

Сродство ингибитора к ферменту характеризуется следующим уравнением:



где  $E$  — фермент,  $I$  — ингибитор,  $EI$  — комплекс, который они образуют, а  $k'$  и  $k''$  — микроконстанты скорости реакции. Отсюда можно вывести уравнение (2), в котором  $K_i$  — это ингибиторная константа, представляющая собой константу диссоциации:

$$K_i = \frac{k''}{k'}. \quad (2)$$

Уравнение, аналогичное (1), но с «М» (метаболит) вместо  $I$ , применяется в тех случаях, когда метаболит не изменяется в результате взаимодействия с ферментом, т. е. является коферментом. Отсюда можно прийти к константе Михаэлиса ( $K_m$ ), которая также является константой диссоциации:

$$K_m = \frac{k''}{k'}. \quad (3)$$

Очевидно, что константа Михаэлиса обратно пропорциональна величине сродства фермента к субстрату и численно равна концентрации субстрата в тот момент, когда скорость реакции достигает половины максимальной [994]. Размерность величин  $K_i$  и  $K_m$  — г-моль/л. Это, однако, не истинные константы равновесия, а отношения констант скоростей реакций.

Наиболее точно значение  $K_m$  можно определять, пользуясь графическим методом по Лайнуиверу — Берку [914]; этот метод состоит в том, что на оси абсцисс откладываются значения, обратные величине начальной скорости образования комплекса  $EM$ , а по оси ординат — значения, обратные величине концентрации субстрата. В результате на графике должна получиться прямая линия, а если это так, то значение  $K_m$  находится в точке пересечения этой прямой с ординатой.

Методом Лайнуивера — Берка часто пользуются в тех случаях, когда хотят выяснить, обладает ли ингибитор истинно конкурентным действием (определение см. выше). Для этой цели строится график зависимости начальной скорости реакции от концентрации субстрата (в виде обратных величин). Эксперимент проводится так, чтобы концентрации ингибитора непрерывно увеличивались. На графике откладывают значения, характеризующие изменения скорости реакции при нескольких различных концентрациях ингибитора. Если торможение носит характер конкурентного, то на графике получается несколько прямых линий, по одной для каждой концентрации ингибитора, и все они проходят через начало координат.

Индекс ингибирования для данного ингибитора — это отношение  $K_i/K_m$ ; чем меньше значение индекса, тем более эффективным является ингибитор.

Ситуация несколько усложняется, если метаболит представляет собой субстрат, так как в этом случае метаболит изменяется под действием фермента. Из этого следует:



Отсюда легко вывести значение константы Бриггса — Холдейна ( $K_{bh}$ ):

$$K_{bh} = \frac{k'' + k'''}{k'}.$$

Эта константа характеризует процессы одновременной диссоциации комплекса  $EM$  в двух противоположных направлениях. Если  $K_m$  заменить

на  $K_{bh}$ , то индекс ингибирования оказывается равным отношению  $K_i/K_{bh}$ . Все эти расчеты справедливы при условии, что ингибитор не распадается (и не разрушается) под действием каких-нибудь сопутствующих биологических веществ.

Здесь уместно упомянуть о концепции «дистопических» комплексов фермент-метаболит [1603]. Если соответствие между метаболитом и ферментом недостаточно близкое, то метаболит используется неэффективно; если же при этом структура его такова, что связывается он с ферментом прочнее, чем другой метаболит, в большей мере соответствующий ферменту и, следовательно, более эффективно используемый, то он становится ингибитором лишь частично (см. гл. 4, разд. 3, а также пример с 2-метил-4-аминобензойной кислотой в гл. 6, разд. 3).

Молярный индекс ингибирования для малоновой кислоты равен  $1/3$  [1422]. Еще более эффективное ингибирование дает окись углерода, замещающая кислород в молекулах гемоглобина (индекс равен  $1/210$ ). Для индекса ингибирования значения, меньшие единицы (как в двух только что упомянутых примерах), необычны, так как аналог лишь в редких случаях обладает большим родством к природному рецептору, чем нормальный субстрат. Большие значения, такие, например, как  $300/1$  — величина, характеризующая антагонизм между сульфаниламидом и *n*-аминобензойной кислотой на стрептококках, — встречается значительно чаще [1573].

Нет ничего удивительного в том, что в огромном большинстве случаев индексы ингибирования имеют низкие значения. Ведь действие естественного отбора было направлено на «создание» именно таких ферментов, которые способны использовать свои нормальные субстраты с наибольшей возможной эффективностью.

Другой причиной относительно малой эффективности конкурентных ингибиторов является стационарное состояние живой клетки. Подвергающийся «атаке» фермент постоянно снабжается субстратом, т. е. метаболитом, поступающим благодаря действию предыдущего (в последовательности метаболических реакций) фермента, а его продукт потребляется следующим в цепи ферментом. Таким образом, эти «атакуемые» ферменты обычно оказываются *недостаточно* насыщенными субстратом и, следовательно, обладают большим резервом активности. При введении конкурентного ингибитора в такую систему, находящуюся в стационарном состоянии, действительно вначале происходит ингибирование соответствующего фермента, но по мере накопления неиспользуемого нормального субстрата это ингибирование постепенно ослабляется и в конце концов сводится на нет. Таким образом, в системе устанавливается новое стационарное состояние, в котором общий итог действия данного метаболического пути остается тем не менее неизменным за счет того, что концентрация субстрата для атакуемого ингибитором фермента поддерживается на более высоком уровне, достаточном для того, чтобы уравновесить эффект действия ингибитора [1090]. Этот пример иллюстрирует коренное различие в химии простых систем, которые часто служат объектом исследований, и подобных им, но значительно более сложных самовоспроизводящихся систем, которые в процессе эволюции образовались в живой клетке и которые составляют самую основу жизни.

*Регуляция по принципу обратной связи.* Показано, что при наличии запаса природных пуринов в клетке дальнейший синтез в ней пуринов прекращается до тех пор, пока концентрация пуринов не упадет ниже некоторого определенного уровня. Подобная регуляция по механизму обратной связи была обнаружена и для пиримидинов, как природных, так и синтетических [218]. Аналоги метаболитов, помимо *прямого* действия, о котором мы только что говорили, могут также функционировать как репрессоры, осуществляющие обратную связь. Так, например, избыток гистидина (9.2)

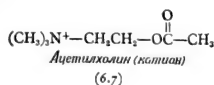
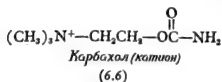
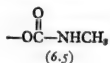
подавляет активность первого из семи ферментов, участвующих в биосинтезе этой аминокислоты из рибозо-5-фосфата и АТФ. Один из аналогов гистидина, 5-гидролизаланин, также ингибирует этот первый фермент, но делает это в 500 раз менее эффективно [1024].

## 2. К истории изучения антиметаболитов до 1940 г.

Изучение антагонизма между метаболитами и их аналогами восходит к работе Рингера [1199], который обнаружил, что катионы  $\text{Na}^+$  в растворе  $\text{NaCl}$  неспособны поддерживать сокращения изолированного сердца, если они не сбалансированы катионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^+$ . В результате этих исследований были созданы физиологические растворы (растворы Рингера, Локе и Тироде).

Следующее открытие в этой области появилось в 1910 г., когда было обнаружено, что некоторые ферменты можно блокировать с помощью соединений, сходных по своей молекулярной структуре с субстратами этих ферментов. Так, активность амилазы — фермента, который в нормальных условиях гидролизует крахмал, — ингибируется декстрином (разд. 1 настоящей главы). Далее, активность фермента сукцинатдегидрогеназы<sup>1</sup> конкурентно подавляется малоновой кислотой (6.1), которая замещает субстрат фермента — янтарную кислоту (6.2) [1169]. Нормальная функция сукцинатдегидрогеназы состоит в превращении янтарной кислоты в фумаровую (6.4). Аналогичный механизм ответствен за токсическое действие окиси углерода, которое состоит в том, что молекула окиси углерода ( $\text{C}=\text{O}$ ) вытесняет сходную с ней по форме молекулу кислорода ( $\text{O}=\text{O}$ ), связанного молекулой гемоглобина [441]. (Строго говоря, гемоглобин не фермент, а переносчик, который сначала связывает кислород, а затем отдает его в неизменном виде.)

Связь всех этих открытий с проблемой действия лекарственных агентов обнаружилась только после того, как выяснилось, что действие алкалоида физостигмина (эзерина) (4.25) на сердце связано с его способностью блокировать действие ацетилхолинэстеразы [923]. Вскоре было обнаружено, что активной частью молекулы физостигмина, ответственной за ингибирование эстераз, служит метилкарбамоилоксигруппа (6.5) [1366]. В 1932 г. выяснилось, что карбахол (6.6), содержащий карбамоилоксигруппу, обнаруживает биологическую активность, в значительной степени сходную с активностью ацетилхолина (6.7). После этого стало, наконец, понятно, что ингибирующее действие физостигмина на ацетилхолинэстеразу объясняется тем, что фермент адсорбирует этот ингибитор [благодаря наличию в его молекуле группировки (6.5)] вместо своего нормального субстрата, ацетилхолина (6.7).



Это толкование представлялось слишком сложным и поэтому вначале не получило широкого признания. Однако в 1934 г. было обнаружено, что ацетилхолин представляет собой природный субстрат, который служит медиатором при передаче нервного импульса через нервно-мышечный синапс

<sup>1</sup> Подробнее о действии этого фермента см. в работе [814].

[393] (гл. 4, разд. 3). В то же время было известно, что тубокурарин (4.19) блокирует передачу импульса в нервно-мышечном соединении. Инг [743] сразу понял, что тубокурарин вступает в конкурентные отношения с ацетилхолином (6.7) за специфические ацетилхолинорецепторы, поскольку и тубокурарин, и ацетилхолин представляют собой четвертичные амины. Инг высказал также предположение, что несколько более слабое кураре-подобное действие многочисленных четвертичных аммониевых, фосфониевых, арсониевых, стибониевых и сульфониевых солей также объясняется конкуренцией с ацетилхолином за рецепторы [743]. (Для более подробного ознакомления с физиологическими функциями ацетилхолина и его антагонистами см. гл. 4, разд. 3 и 6 и гл. 11, разд. 4, в.)

Вскоре после этого, по счастливой случайности, был открыт первый из антивитаминов. Вудли с сотр. [1581] синтезировал два аналога никотиновой кислоты — 3-ацетилпиридин и пиридин-3-сульфокислоту. Имея в виду, что оба эти вещества будут (во всяком случае качественно) обладать биологической активностью витамина, они стали давать их с пищей собакам, страдающим от недостаточности никотиновой кислоты. К их величайшему изумлению, состояние собак ухудшилось. Суть этого явления выяснилась после того, как Вудс [1573] показал, что антибактериальное действие сульфаниламида снимается *n*-аминобензойной кислотой, и объяснил это явление наличием структурного сходства между этими двумя соединениями.

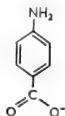
### 3. Сульфамидные препараты и другие антагонисты фолиевой кислоты

Ранний период истории открытия сульфамидов, обладающих антибактериальным действием, уже освещался в гл. 3, разд. 3. После того как выяснилось, что истинным лекарственным агентом служит сульфаниламид (6.9), образующийся в организме в результате восстановления протозола [1434], было показано, что в основе антибактериальной активности сульфаниламида лежит конкуренция его с *n*-аминобензойной кислотой (6.8), которая представляет собой природный метаболит [1573]. Именно тогда и было доказано, что *n*-аминобензойная кислота (ПАБ) представляет собой незаменимый фактор роста для очень многих видов микроорганизмов, которые либо обладают способностью сами синтезировать ПАБ, либо получают ее извне.

Избирательность действия антибактериальных сульфамидных препаратов определяется следующим обстоятельством: хотя *n*-аминобензойная кислота, которая входит в состав фолиевой кислоты (6.17), является для многих микроорганизмов незаменимым веществом, млекопитающие ее не используют. Фолиевую кислоту млекопитающие синтезировать не способны и извлекают ее из пищи. В то же время бактерии только в очень редких случаях способны усваивать фолиевую кислоту в готовом виде [1568]. Существование этих биохимических различий между бактериями и млекопитающими является фактором очень благоприятным. Именно то обстоятельство, что подобные различия встречаются редко, препятствует непосредственному использованию большинства из известных аналогов метаболитов в клинической практике.

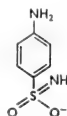
После того как было понято значение сульфаниламида для медицинской практики, началась работа по изменению его структуры с целью получения более активных аналогов. Вскоре выяснилось, что наибольший интерес представляют те из них, у которых R [см. формулу (6.11)] представляет собой гетероциклическое кольцо. Первое из таких соединений, сульфанипирдин, было вскоре вытеснено сульфатиазолом. Затем были открыты сульфапиримидины, перечисленные в табл. 21. К 1942 г. все они уже широко использовались для внутреннего применения при разнообразных бакте-

риальных инфекциях в качестве самых эффективных и безопасных соединений из сульфаниламидных препаратов<sup>1</sup>. Позднее в практику были введены и сейчас вводятся все новые сульфаниламидные препараты, но сульфапиримидины (наряду с антибиотиками) по-прежнему сохраняют ведущее положение среди антибактериальных средств общего действия.



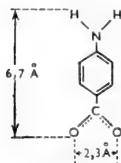
*p*-Аминобензойная кислота

(6.8)

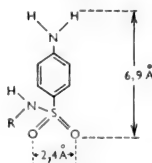


Сульфаниламид (анион)

(6.9)



(6.10)



(6.11)

Некоторые из новейших гетероциклических сульфаниламидных препаратов завоевали признание клиницистов в связи с тем, что обладают хорошей растворимостью в моче (их ацетильные производные растворимы также хорошо). В этой группе соединений наибольшее значение имеют сульфазоразол (5-*n*-аминобензолсульфамидо-3,4-диметилизоксазол, гантиризин) и сульфазомидин (4-*n*-аминобензолсульфамидо-2,6-диметилпиримидин, элкозин). Среди новых сульфаниламидных препаратов имеются такие, которые привлекают к себе внимание в связи с тем, что обладают пролонгированным действием. Самый эффективный из них, по-видимому, 2-*n*-аминобензолсульфамидо-5-метоксипиримидин (сульфаметоксидиазин, дюрнат), затем следуют 2-*n*-аминобензолсульфамидо-5-метилпиримидин (паллидин), 3-*n*-аминобензолсульфамидо-6-метоксипиридазин (ледеркин, давозин) и 4-*n*-аминобензолсульфамидо-2,6-диметоксипиримидин (сульфадиметоксин, мадрибон). Сульфаниламидные препараты, являющиеся производными пиридина, тиазола, оксазола и изоксазола, пролонгированным действием не обладают [858].

В соединении (6.11) заместитель R находится вне плоскости всей остальной части молекулы и потому не оказывает влияния на соединение с рецептором, предназначенным для (6.10).

Кислотная константа ионизации ПАБ ( $pK_a$ ) (стр. 219) составляет 4,8. *n*-Аминобензойная кислота не является диттерионом. Предполагают, что биологически активной формой служит ее анион (6.10). Большинство сульфаниламидных препаратов, обладающих антибактериальной активностью, могут ионизоваться с образованием анионов. Исключение составляет сульфатуанидин, а также некоторые другие активные аналоги, например 4,4'-диаминодифенилсульфон и *n*-аминоацетофенон (см. ниже).

<sup>1</sup> Активность гетероциклических сульфаниламидных препаратов (in vitro) в среднем примерно в 23 раза выше активности сульфаниламида по отношению к различным стрептококкам, а по отношению к грамотрицательным бактериям *E. coli* и *Salmonella cholerae suis* соответственно в 36 и 139 раз [533].

Если сравнить размеры аниона *n*-аминобензойной кислоты (6.10) и размеры анионов сульфаниламидных препаратов (6.11), то структурное сходство между этими соединениями становится очевидным. Совершенно ясно, что *пара*-расположение является необходимым условием активности: ни *орто*-, ни *мета*-изомеры (6.11) антибактериальным действием не обладают. Не менее важно, наконец, чтобы аминогруппа при бензольном кольце была незамещенной (см. ниже) и не была бы понижена; в результате ионизации происходит лишь незначительное изменение размеров молекулы (6.11) [142].

Прежде чем продолжить обсуждение вопроса о том, каким образом сульфамидные препараты нарушают метаболизм фолиевой кислоты, следует остановиться на некоторых соединениях, которые являются конкурентными антагонистами ПАБ, хотя и не относятся к производным сульфаниламида. Это могут быть вещества, содержащие сульфоновую ( $C - SO_2 - C$ ) группировку вместо сульфамидной, или вещества, вовсе не содержащие серы, но обязательно обладающие сильно выраженным структурным сходством с ПАБ как в смысле распределения электронов, так и в отношении конфигурации.

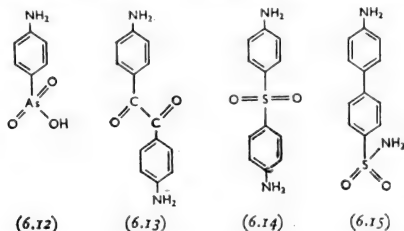
В результате введения в молекулу ПАБ метильной группы (в положение 2 или 3) получаются соединения, которые активностью *n*-аминобензойной кислоты не обладают, но и не являются ее антагонистами. Однако введение в положение 2 или 3 молекулы ПАБ атома хлора приводит к образованию активного антагониста ПАБ [1587].

Еще один антагонист ПАБ — *n*-аминобензоларсеновая кислота [атоксил (6.12)]. Мышьяковые кислоты в общем не обладают антибактериальной активностью [34], но соединение (6.12) представляет исключение в этом смысле. Это единственное из производных мышьяка, обладающее достаточным структурным сходством с ПАБ, для того чтобы конкурировать с ней [688]. Другой антагонист ПАБ, не содержащий серы, — диаминобензил (6.13). Диаминобензил в несколько раз активнее сульфаниламида, и лишь в небольшой степени уступает сульфатиазолу [863]. Антагонисты ПАБ, содержащие серу, вовсе не обязательно содержат сульфамидную группу. Примером может служить дапсон [*n,n'*-диаминодифенилсульфон (6.14)]. При пневмококковых инфекциях у мышей это соединение оказалось в 16 раз более активным, чем сульфаниламид [918], но и соответственно более токсичным. Этот препарат широко используется для лечения проказы и тех форм малярии, которые резистентны к хлорохину и другим азотсодержащим гетероциклическим соединениям.

Какими же структурными особенностями должны обладать соединения, для того чтобы они могли служить антагонистами *n*-аминобензойной кислоты? Первое условие — наличие в молекуле первичной ароматической аминогруппы. Она может содержать только такие заместители, которые в организме легко отщепляются с высвобождением первичной аминогруппы. Можно полагать, что именно так расщепляются соответствующие азо- и азометиновые производные (как это характерно, например, для прontosила и солюсентазина). Ацильные или алкильные остатки отщепляются от аминогруппы со значительно большим трудом [1064]. Второе условие — присутствие отрицательно заряженной группировки, расположенной в *пара*-положении по отношению к аминогруппе, на таком же расстоянии от нее, как и в молекуле ПАБ. В качестве электроотрицательной группировки в молекулах антагонистов обычно фигурируют электроноакцепторные группы типа  $C = O$  или  $S = O$ . Насколько важно, чтобы в молекуле антагониста расстояние между аминогруппой и электроотрицательной группой было таким же, как в молекуле ПАБ, видно на примере 4-амино-4'-сульфамидодифенила (6.15), который не обладает антагонистическим действием по отношению к ПАБ [864].



Некоторые исследователи считают, что антибактериальная активность пропорциональна величине этого отрицательного заряда независимо от того, ионный это заряд (т. е. целый) или поляризационный (т. е. дробный) [1211]. Другие, основываясь на данных инфракрасной спектроскопии, указывают на то, что хотя поляризация  $\text{SO}_2$ -группы у различных сульфамидных препаратов почти одинакова, биологически активны далеко не все (50%) [1301].



Создается впечатление, что активность производных соединения (6.11) зависит от значения сигма константы Гаммета для группы R; чем больше положительное значение  $\sigma$ , тем выше активность соответствующего сульфамидного препарата; такая же корреляция отмечается и при анализе инфракрасных спектров этих соединений [1300]. И все же совершенно очевидно, что в этой области надлежит сделать еще очень многое.

Для лечения бактериальной дизентерии, а также для дезинфекции толстого кишечника перед операцией очень эффективными оказались два производных сульфатазидола, ацилированных по  $\text{N}_4$ : сукцинилсульфатазидол (сульфасукцидин) и фталилсульфатазидол (сульфаталидин, талазол). Ацильная группа отщепляется в толстой кишке, из которой сульфатазидол всасывается лишь в очень незначительной степени.

*n*-Аминометилбензолсульфаниламид (6.16) (марфанил, сульфамилон), только «на бумаге» напоминающий сульфаниламиды, представляет собой вещество с высокой основностью и специфической активностью по отношению к *Clostridia*, вызывающим газовую гангрену [488]. *n*-Аминобензойная кислота антагонистом этого соединения не является [781]

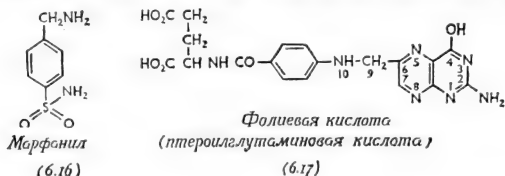
#### а. Механизм ингибирования биосинтеза фолиевой кислоты сульфамидными препаратами

Открытие фолиевой кислоты (6.17) в 1946 г. позволило лучше понять антагонистические отношения, существующие между сульфамидными препаратами и *n*-аминобензойной кислотой. Молекула фолиевой кислоты состоит из трех главных компонентов [см. формулу (6.17), слева направо]: глутаминовой кислоты, *n*-аминобензойной кислоты и 2-амино-4-окси-6-метил-птеридина.

Бактерии нуждаются в *n*-аминобензойной кислоте, которую они превращают в 7,8-дигидрофолиевую кислоту [616, 1574]. Так, бактерии *E. coli* осуществляют конденсацию *n*-аминобензойной кислоты (или *n*-аминобензоилглутаминовой кислоты) с 2-амино-4-окси-6-оксиметил-7,8-дигидроптеридинпирофосфатом, в результате чего образуется дигидроптериновая (или дигидрофолиевая) кислота [770].

Сульфамидные препараты конкурентно ингибируют активность фермента (в изолированном виде известного под названием дигидрофолатсинтетазы), который катализирует реакцию на этой стадии. Коферментами дигидрофолатсинтетазы служат аденозинтрифосфат и магний [238]. Достоверность

этих исследований была подтверждена в экспериментах на другом штамме бактерий, нуждающихся в ПАБ, *Leuconostoc mesenteroides* [738]. Вывод, согласно которому первым продуктом в этом биосинтетическом пути является



7,8-дигидроптероиновая кислота (т. е. фолиевая кислота без остатка глутаминовой кислоты), был сделан на основании наблюдения, что это соединение способно заменять *n*-аминобензойную кислоту в качестве фактора роста, причем его активность либо вовсе не подавляется сульфамидными препаратами (у *Leuconostoc mesenteroides*), либо ингибируется ими лишь в незначительной степени (у *E. coli*). В последнем случае, по-видимому, очень небольшое количество сульфамидного препарата (сульфатиазола) включается, вместо ПАБ, в состав молекулы аналога дигидроптероиновой кислоты.

Очень полезными для выяснения взаимоотношений между фолиевой кислотой, *n*-аминобензойной кислотой и сульфамидными препаратами оказались немногочисленные штаммы бактерий, способные поглощать фолиевую кислоту (например, штаммы *Streptococcus faecalis* и некоторых представителей рода *Lactobacillus*).

Из данных, приведенных в табл. 18, очевидно, что существует строгая пропорциональность между количеством сульфадиазина, которое требуется для угнетения роста *Streptococcus faecalis*, штамм Ральстона, и количеством ПАБ, необходимым для снятия ингибирующего эффекта. В отличие от этого количество фолиевой кислоты, требуемое для снятия ингибирующего эффекта, есть величина постоянная, не зависящая от того, какое количество сульфадиазина было использовано. Это свидетельствует о том, что сульфадиазин нарушает биосинтез фолиевой кислоты из *n*-аминобензойной, не влияя на ее утилизацию в отличие, например, от аминоптерина. Таким образом, добавляя фолиевую кислоту, можно снять действие сульфамидных препаратов по бесконкурентному механизму. То же наблюдается при действии сульфамидных препаратов на *L. arabinosus* (которые нуждаются во внешнем источнике ПАБ). В этом случае ПАБ снимает ингибирующий эффект сульфамидных препаратов по конкурентному механизму, а фолиевая кислота неконкурентно. Количество фолиевой кислоты<sup>1</sup>, которое вырабатывается этими микроорганизмами, обычно пропорционально количеству *n*-аминобензойной кислоты в среде. Однако если в среде присутствует также сульфаниламид, то количество фолиевой кислоты уменьшается пропорционально возрастанию концентрации сульфаниламида, и это оказывается верным для очень большого интервала, в пределах которого концентрации сульфаниламида могут меняться в 10 000 раз [1059, 1060].

В культуре *E. coli* образование фолиевой кислоты также угнетается сходным образом под действием сульфаниламида [1000].

Из данных, приведенных в табл. 18, явствует, что тимин, производное пиримидина, которое входит в состав дезоксирибонуклеиновой кислоты, способен подавлять противострептококковую активность сульфадиазина, причем его действие является почти неконкурентным. Не удивительно, что

<sup>1</sup> Количество фолиевой кислоты определяли путем титрования гомогената бактериальной культуры с помощью *Lactobacillus casei* — организма, чувствительного только к фолиевой кислоте, но не к ПАБ.

Таблица 18

## Конкурентное и неконкурентное торможение [872]

Соединение	Количество вещества, необходимое для 50%-ного торможения действия сульфадиазина на <i>Streptococcus faecalis</i> , штамм Ральстона, мкг/мл			
	1	10	100	1000
Сульфадиазин				
<i>n</i> -Аминобензойная кислота	0,003	0,03	0,3	3,0
Птеронилглутаминовая кислота (6.17)	0,0003	0,0003	—	0,0003
Тимин (6.18)	0,06	0,25	0,25	0,25

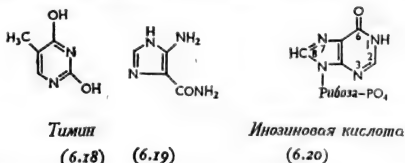
при этом требуется большое количество тимина, так как тимин — не катализатор (подобно ПАБ или фолиевой кислоте), а компонент клеточной ДНК, и понятно, что потребность в нем увеличивается по мере роста культуры.

Аналогичный антагонизм (неконкурентного типа) различных пуринов был обнаружен на других видах. В настоящее время известно, что одна из основных функций фолиевой кислоты состоит в том, что она служит кофактором в синтезе различных пуринов и пиримидинов, входящих в состав нуклеиновых кислот [250, 611].

Действие лекарственных препаратов-антагонистов *n*-аминобензойной кислоты на большинство видов патогенных бактерий и простейших фолиевая кислота и ее производные не снимают, так как неспособны проникать в эти микроорганизмы.

## 6. Роль производных фолиевой кислоты в природе

Выше говорилось о том, что производные фолиевой кислоты играют ключевую роль в биосинтезе пуринов и пиримидинов. Эти птеридины служат коферментами, ответственными за включение атомов углерода в положения 2 и 8 в молекулах пуринов и за введение метильной группы в молекулу тимина (6.18). При действии на бактерии сульфаниламидных препаратов в низких концентрациях в культуральной жидкости накапливается 4-аминоимидазол-5-карбоксамид (6.19) [1311, 1376]. Это соединение в виде своего риботида является промежуточным продуктом в биосинтезе инозиновой кислоты (6.20), из которой образуются все пурины [250].

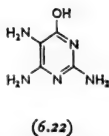
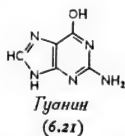


Роль кофермента, обеспечивающего включение  $C_{(2)}$  в пурины, т. е. формилирование рибозиды соединения (6.19), с образованием инозиновой кислоты (6.20), играет  $N_{(10)}$ -формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота. На более ранней стадии включение  $C_{(3)}$ , т. е. формилирование риботида глицинамида, в результате которого (в конечном счете) образуется риботид соединения (6.19), происходит при участии кофермента  $N_{(5)}, N_{(10)}$ -метилтетрагидрофолиевой кислоты. Коферментом, обеспечивающим введение метильной группы в молекулу дезоксиуридиловой кислоты, т. е. образова-

пие тимидиловой кислоты. является  $N_{(5)}, N_{(10)}$ -метилентетрагидрофолиевая кислота. Она же ответственна за взаимопревращения двух аминокислот, серина и глицина. В синтезе метионина роль кофермента играет 5-метилдигидрофолиевая кислота. Катаболизм гистидина и реакция гидроксирования фенилаланина с образованием тирозина также катализируются птеридиновыми коферментами (каждый кофермент действует совместно со специфичным ферментным белком). В живых клетках обнаружены также фолиевые кислоты, содержащие не одну молекулу глутаминовой кислоты, как обычно, а целые пептиды, состоящие из нескольких остатков глутаминовой кислоты. Эти вещества, по всей вероятности, обладают функциями коферментов.

Из всего вышезложенного с очевидностью следует, что птеридиновые коферменты играют важнейшую роль в биосинтезе как нуклеиновых кислот, так и белков. Лекарственные вещества-антагонисты фолиевой кислоты подавляют синтез нуклеиновых кислот в таких концентрациях, при которых синтез белка не нарушается. И все же оба эти процесса связаны между собой, так как в результате ингибирования реакции образования  $N$ -формилметионина из метионина нарушается синтез транспортной РНК для  $N$ -формилметионина, которая служит, во всяком случае у бактерий, главным инициатором синтеза белка. Ингибирование реакции формилирования, о которой только что шла речь, достигается с помощью агентов, которые препятствуют превращению дигидрофолиевой кислоты в тетрагидрофолиевую (см. ниже).

Имеется очень мало данных, для того чтобы утверждать, что сульфаниламиды включаются в молекулы соединений, подобных по своей структуре фолиевой кислоте.



В то же время известно, что противотуберкулезное средство  $p$ -аминосалициловая кислота (ПАСК) под действием некоторых бактерий кишечной группы превращается в функционально неактивный аналог фолиевой кислоты, содержащий вместо  $p$ -аминобензойной кислоты  $p$ -аминосалициловую. В результате нормальное функционирование бактерий нарушается, так как дефицитный фрагмент фолиевой кислоты расходуется впустую [1471].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что биологически активные птеридины образуются в природе из пуринового основания, гуанина (6.21) (в форме гуанозинтрифосфата), разлагающегося с образованием 2,4,5-триамино-6-оксипуридина (6.22), который затем конденсируется с алифатическим 1,2-дикарбонильным фрагментом [390, 1606]. В живых клетках витамин рибофлавин образуется в результате присоединения производного диметилбензола к замещенному птеридину, а именно к 6,7-диметил-8- $D$ -рибитил-2,4-диоксиптеридину, который в свою очередь образуется из пурина [1148].

Спектр встречающихся в живой природе птеридинов, безусловно, не ограничивается фолиевой кислотой и близкими к ней по структуре коферментами. Разнообразные простые птеридины, такие, как, например, ксантоптерин (2-амино-4,6-диоксиптеридин), широко представлены в организме различных насекомых и позвоночных. Биоптерин ( $D$ -эритро-2-амино-4-окси-6-1',2'-диоксипропилптеридин), который содержится в моче человека, а также в маточном молочке медоносной пчелы, представляет собой ростовой фактор для простейших *Crithidia fasciculata*. Биоптерин служит коферментом, ответствен-

ным за некоторые очень важные окислительные процессы в клетках млекопитающих, например за превращение фенилаланина в тирозин.

Коферменты-производные фолиевой кислоты и другие птеридины играют важную роль в регуляции процессов анаболизма. Особенно велико их значение для метаболизма нуклеиновых кислот. В связи с этим возникает настоятельная потребность как можно более подробно изучить химию птеридинов. В этой области работают сравнительно немногочисленные исследователи, которые время от времени встречаются на международных симпозиумах, посвященных птеридинам [1138]. Автор настоящей книги и его ближайшие сотрудники занимаются вопросами химии птеридинов уже довольно давно; начиная с 1951 г. они публикуют результаты своих исследований в *Journal of the Chemical Society*.

Химия птеридинов во многих отношениях необычна, главным образом из-за присутствия в их молекулах при двойных связях четырех атомов азота, обладающих сильно выраженными электроноакцепторными свойствами. Благодаря этому нарушается ароматический характер этих соединений, который, казалось бы, должен быть им свойствен, если исходить из классической структурной формулы птеридинов. Для птеридинового цикла характерна тенденция к ковалентному присоединению молекулы воды по двойной связи даже при комнатной температуре. Примером может служить поведение ксантоптерина. Вопрос этот обсуждается дополнительно в гл. 7, разд. 1, б [30]. Еще легче происходит присоединение других нуклеофильных соединений, например ацетона, кетокислот и меркаптанов. Еще одна особенность, свойственная не только птеридинам, но и некоторым другим азотсодержащим гетероциклическим соединениям, состоит в том, что заместители, способные к образованию водородных связей (например,  $-\text{NH}_2$ ), обуславливают снижение растворимости этих соединений в воде [33]. У природных птеридинов была также обнаружена (и количественно охарактеризована) сильно выраженная способность к хелатообразованию [25].

#### *в. Агенты-антагонисты реакций птеридинового ядра*

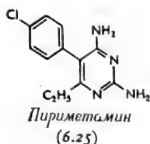
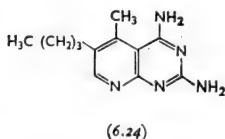
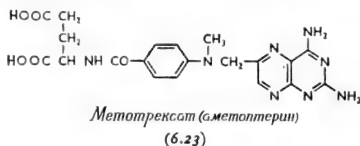
В дрожжевых клетках и в печени птиц и млекопитающих фолиевая кислота содержится в очень больших количествах. Фолиевая кислота является незаменимым витамином для человека и других млекопитающих. Недостаточность фолиевой кислоты очень быстро приводит к макроцитарной анемии и заболеваниям желудочно-кишечного тракта. Поэтому химики первоначально с недоверием отнеслись к идее создания антагонистов метаболитов, структура которых основана на птеридиновом ядре. Тем не менее некоторые из подобных соединений оказались очень ценными лекарственными средствами.

В связи с тем что птеридины играют важную роль как катализаторы синтеза пуринов и пиримидинов, различные аналоги фолиевой кислоты испытывались в качестве возможных канцеростатических средств. Высокоактивным в этом отношении соединением оказался аметоптерин — производное фолиевой кислоты, в молекуле которой оксигруппа в положении 4 заменена аминогруппой. Клинические испытания, которые проводятся начиная с 1958 г., обнаружили, что большей избирательностью действия обладает аметоптерин (6.23) (метотрексат). Аметоптерин отличается от фолиевой кислоты (6.17) всего лишь двумя заместителями: оксигруппа в положении 4 замещена здесь аминогруппой, а атом водорода в положении 10 — метильной группой. Аметоптерин широко используется в медицинской практике при острых лейкозах в молодом возрасте [502]. С помощью этого препарата удается добиться ремиссии заболевания примерно на 1 год. С течением времени, однако, лейкозные клетки становятся резистентными к действию аметоптерина.

Однако при лечении некоторых других форм рака аметоптерином (метотрексатом) удавалось достигнуть полного излечения. Так, например, при хорионэпителиоме излечение наблюдалось в 80% случаев. Хорионэпителиома представляет собой быстро растущую злокачественную опухоль, которая обычно появляется во время беременности. Любопытно, что противораковое действие аметоптерина обнаруживается и в тех случаях, когда он применяется только местно. Очень сильно выраженным оказалось действие метотрексата на опухоль Беркита — лимфому, которая возникает обычно в челюсти, а затем быстро распространяется по всему организму. Как правило, такие больные живут не более 6 месяцев. Это заболевание поражает чаще всего детей в тропических странах [261]. После быстрого излечения с помощью аметоптерина симптомы этого заболевания во многих случаях не возобновлялись в течение всего времени наблюдения (6 лет).

Несмотря на всю осторожность, с которой клиницисты говорят об «излечении» применительно к раку, в данном случае большинство из них признают, что это и в самом деле излечение. Подобного рода достижения обнадеживают тех, кто посвятил свою жизнь исследованиям в области химиотерапии рака, несмотря на то что большинство вопросов, связанных с проблемой рака, остаются нерешенными.

Механизм действия аминоптерина и аметоптерина на клетки млекопитающих и бактерий состоит в угнетении активности дигидрофолатгидрогеназы [1052, 1520]. Это фермент, который обеспечивает восстановление 7,8-дигидрофоллиевой кислоты в 5,6,7,8-тетрагидрофоллиевую [1081].



Действие аметоптерина оказалось высокоспецифичным: в концентрации  $10^{-9}$  M он вызывает 50%-ное ингибирование дигидрофолатгидрогеназы, тогда как на все остальные ферменты он в этой концентрации практически не действует. Этот ингибитор связывается с ферментом примерно в  $10^4$  раз прочнее (явление в своем роде редчайшее), чем нормальный субстрат (разд. 1 настоящей главы), и, следовательно, реакция ингибитора с ферментом в данном случае наименее обратима из всех известных. Различий в ингибирующем действии аметоптерина (в отличие от диаминопиримидинов, см. ниже) на безусловно отличающиеся друг от друга дигидрофолатгидрогеназы, выделенные из организмов разных видов, обнаружить не удается [1519]. Устойчивость к аметоптерину, которая всегда развивается после одного года лечения острого лейкоза, сопровождается повышенным образованием этой гидрогеназы опухолью [1008].

Аминоптерин и аметоптерин оказались очень мало токсичными для большинства бактерий и простейших, которые обычно не способны легко поглощать эти соединения [1568].

Было показано, что 2,4-диамино-6,7-дифенилптеридин не менее эффективен при малярии у кур (возбудитель *Plasmodium gallinaceum*), чем хинин [612]. Оказалось, далее, что 2,4-диамино-6,7-диптиридин высокоактивен в отношении *Vibrio cholerae* [340], но на многие другие виды бактерий не действует. Хитчингс в своих исследованиях пошел по пути упрощения структуры молекул этих птеридинов и обнаружил, что если заменить N-5 на атом углерода, то получают вещества, обладающие способностью проникать в бактериальные клетки. Такие «упрощенные аметоптерины» представляют собой производные 2,4-диамино-1,3,8-триазанафталина. Самое активное из них — соединение (6.24). Это 2,4-диамино-5-метил-6-н-бутил-1,3,8-триазанафталин или, иначе, 2,4-диамино-5-метил-6-п-бутилпиродо[2,3-*d*]пиримидин [1208]. Действие этого соединения на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы облегчается благодаря присутствию в его молекулах в положениях 5 и 6 липофильных заместителей. Было обнаружено, что ингибирование изолированной дигидрофолатгидрогеназы разных бактерий производными триазанафталина пропорционально их действию на интактные бактерии [254, 690].

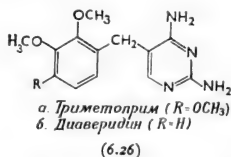
Исследуя возможности упрощения молекулы аметоптерина, Хитчингс обнаружил, что и совсем простые по структуре производные 2,4-диаминопиримидина обладают мощной антифолевой активностью на бактериях. Основываясь на этих данных, он создал пириметамин (6.25) (дараприм) [499]. Это вещество — 2,4-диамино-6-этил-5-*n*-хлорфенилпиримидин — представляет собой одно из самых эффективных противомалярийных препаратов; в настоящее время оно нашло самое широкое применение в качестве профилактического противомаларийного средства. Наличие в молекуле пириметаминна липофильных заместителей ( $-\text{Cl}$ ,  $-\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ ) благоприятствует накоплению его в эритроцитах, содержащих малярийный плазмодий [689], а также способствует адсорбции пириметаминна на ферменте, которая происходит за счет ван-дерваальсовых сил. Фермент, о котором идет речь, — это дигидрофолатгидрогеназа. Это было показано в опытах на *Plasmodium berghei* [515]. Малярийные паразиты, так же как бактерии, не способны поглощать готовую фолиевую кислоту или ее производные. Замена в молекуле пириметаминна фенильной группы в положении 5 на *n*-бутильную или даже на 4-фенилбутильную слабо сказывается на его способности ингибировать изолированную дигидрофолатгидрогеназу. Однако введение в положение 5 вместо фенильного остатка группы с меньшим, чем в бутильной группе, числом атомов углерода влечет за собой прогрессирующее уменьшение средства препарата к дигидрофолатгидрогеназе [97].

Производное триазина (2.19), которое образуется в организме из прогуанила (2.18), также служит ингибитором дигидрофолатгидрогеназы и используется в качестве противомаларийного средства [1569].

Для позвоночных самыми эффективными противомаларийными средствами являются 2,4-диаминопиримидины, содержащие в положении 5 фенильную группу с электрооакцепторным заместителем и алкильную группу в положении 6. Однако при кокцидиозе — сходом с малярией протозойном заболевании домашней птицы — более эффективными оказались 5-бензилпроизводные и в особенности диаверидин (6.26, б). В молекулах соединений обоих этих типов нежелательно присутствие объемистых заместителей в положении 6, которые могли бы создавать стерические затруднения для заместителя в положении 5. Еще один вариант препарата, триметоприм (6.26, а), представляет собой превосходный антибактериальный препарат, активный как в отношении грамположительных, так в отношении грамотрицательных микроорганизмов [1235]. Этот препарат вводится перорально и находит применение в качестве синергиста сульфамидов.

В табл. 19 приведен пример того, насколько резко различается активность 2,4-диаминопиримидинов по отношению к разным видам организмов.

Из данных, приведенных в этой таблице, отчетливо видно, что триметоприм ингибирует изолированную дигидрофолатгидрогеназу млекопитающих приблизительно в 30 000 раз слабее, чем соответствующие бактериальные ферменты; триметоприм действует одинаково и на грамположительные, и на грамотрицательные бактерии [254].



Весьма обнадеживает то обстоятельство, что открытие всех этих трех эффективных лекарственных веществ-производных 2,4-диаминопиримидина явилось главным образом результатом научного предвидения.

Таблица 19

**Действие триметоприма (6.26) на дигидрофолатгидрогеназу**

Источник фермента		Концентрация препарата ( $\times 10^4$ M), вызывающая 50%-ное ингибирование фермента
Печень млекопитающих	Человек	30 000
	Крыса	26 000
	Кролик	37 000
Бактерии	<i>Escherichia coli</i>	0,5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,5
	<i>Proteus vulgaris</i>	0,4

Для повышения химиотерапевтической активности антифоллиевых препаратов возможно применять способ последовательного блокирования (разд. 5 настоящей главы). Длительное лечение большими дозами антифоллиевых препаратов (но не антагонистов ПАБ) вызывает повреждение эритроцитов, что ведет к макроцитарной анемии. Несколько позднее может произойти и нарушение образования лейкоцитов. Введением фоллиевой кислоты или, еще лучше, цитроворум-фактора ( $N_{15}$ -формилтетрагидрофоллиевой кислоты) можно с легкостью предупредить или снять эти побочные эффекты: при этом активность в отношении микроорганизмов не снижается [537, 734].

При лечении с помощью антиметаболитов фоллиевой кислоты существует опасность самопроизвольного аборта или повреждения плода, поэтому в период беременности антифоллиевые препараты следует применять с осторожностью. 2,4,7-Триамино-6-фенилптеридин (триамтерен) в качестве мочегонного средства оказался для человека безвредным и эффективным при пероральном применении [369, 440].

#### 4. Другие аналоги метаболитов, обладающие выраженной избирательной токсичностью

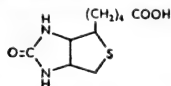
**Вводные замечания.** Создание аналогов метаболитов особых трудностей не представляет. Однако найти среди них такие, которые обладают способностью действовать избирательно, очень трудно, потому что редко можно



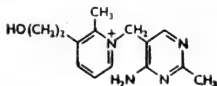
встретить метаболит, незаменимый для вредного вида и одновременно несущественный для вида полезного. Если метаболит (например, тиамин) содержится во всех без различия живых клетках, то возможность получения для него аналога, обладающего избирательным действием, кажется маловероятной. И все же в некоторых особенно благоприятных случаях удавалось обнаружить избирательно действующие вещества; в дальнейшем эти вещества получили широкое распространение в качестве эффективных лекарственных средств. Успех терапии часто определяется тем, что один вид обладает преимущественной способностью к поглощению аналога по сравнению с другим видом. Даже относительно незначительные изменения структуры молекул могут весьма заметно влиять на способность клетки к их поглощению; при этом лекарственное вещество либо а) вообще не будет попадать в клетки полезного вида, либо б) будет преимущественно поглощаться вредными видами или же концентрироваться в тех участках, где эти вредные виды сосредоточены (как это и происходит с пириметином, см. выше, разд. 3).

Очень любопытно, что в некоторых случаях аналог метаболита может играть роль метаболита для одного вида и служить антагонистом для другого, родственного вида. Так, например, дитиобiotин способен заменять биотин в качестве фактора роста у дрожжей и в то же время выступать как антагонист биотина у *Lactobacillus casei*. Причина этого известна: дрожжи обладают способностью включать в молекулу дитиобiotина недостающий атом серы, а бактерии этой способностью не обладают [428]. Точно так же устойчивость гриба *Endomyces* к действию пиритиамина (6.28), приобретенная в процессе повторных пересевов на среду, содержащую этот антагонист, объясняется способностью устойчивого штамма расщеплять молекулу пиритиамина и синтезировать из фрагмента его молекулы тиамин (5.1). Природный метаболит может выполнять свою функцию в нескольких ферментах, причем для блокирования активности ферментов могут потребоваться разные ингибиторы. Так, например, антагонистом витамина К (5.2) в крови человека является дикумарол (6.29), но не 2,3-дихлорнафтохинон (дихлон) (6.30). В то же время у грибов антагонистом того же витамина К служит это последнее соединение (6.30), дикумарол же оказывается неактивным. Дихлон (6.30) широко используется в сельском хозяйстве в качестве фунгицида.

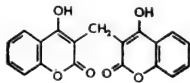
Известны многочисленные случаи, когда тот или иной аналог действует как антагонист метаболита у видов, получающих этот метаболит извне, но не для тех, которые его вырабатывают сами. Именно так обстоит дело с пиритином (6.28): по-видимому, в этом случае действие в качестве антагониста определяется способностью влиять на прохождение метаболита через клеточную мембрану. С другой стороны, вполне возможно, что клетка,



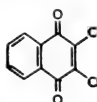
Биотин  
(6.27)



Пиритиамин (катион)  
(6.28)



Дикумарол  
(6.29)

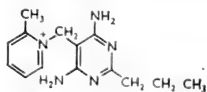


Дихлон  
(6.30)

которая сама синтезирует данный метаболит, не располагает механизмом, обеспечивающим доступ в нее аналога, неспособного к диффузии через мембрану<sup>1</sup>. Другие антиметаболиты, например сульфаниламидные препараты, бензимидазол, 2,3-дихлорнафтохиноны и фенилпантотенол, действуют на разные организмы независимо от того, нуждаются или не нуждаются эти виды в экзогенном источнике метаболита.

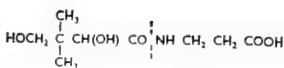
*Примеры успешного использования аналогов метаболитов.* Мы рассмотрим те аналоги метаболитов, которые нашли широкое применение в качестве избирательно действующих токсических агентов. Из них прежде всего следует остановиться на витаминах. Ампролий (6.31), аналог тиамина (5.1), оказался высокоэффективным средством лечения кокцидиоза — инфекционного заболевания домашней птицы, сходного с малярией. Предполагается, что ампролий служит антагонистом фермента тиаминфосфорилазы, содержащейся в цитоплазматической мембране простейшего [1216].

2,2-Дихлорпропионат натрия (далапон, даупон) часто используется для уничтожения однолетних сорняков на полях двудольных растений, например свеклы и люцерны. Исследования конкурентного действия далапона на *E. coli* показали, что он препятствует включению пантотеновой кислоты в молекулу пантотеновой кислоты (6.32). Подобное нарушение синтеза пантотеновой кислоты представляет собой один из основных элементов механизма его действия на однолетние сорняки. Активность далапона снижается при добавлении пантотеновой кислоты извне [683].



Ампролий (катион)

(6.31)



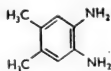
Пантотеновая кислота

(6.32)

Производные кумарина, например дикумарол (6.29), препятствуют свертыванию крови. Предполагают, что эти соединения действуют как антагонисты витамина К, который играет важную роль в свертывании крови. Структурное сходство между антагонистом и метаболитом, в данном случае лишь предполагаемое, становится более отчетливым, если представить себе, что молекулы этих веществ (или во всяком случае витамина К), прежде чем подействовать, превращаются в соответствующие ацетали [313].

Известны случаи стойкого излечения некоторых видов спонтанной злокачественной опухоли молочной железы у мышей с помощью аналогов 1,2-диметил-4,5-диаминобензола (6.33) [1580]. Предполагается, что эти аналоги влияют на синтез или утилизацию витамина В<sub>12</sub>.

Методом рентгеноструктурного анализа было показано, что широко применяемый инсектицид  $\gamma$ -бензоил- $\epsilon$ -сахлорид (линдан) существует не в *мезо*-конфигурации, и, таким образом, аналогом инозита (миоинозита) не является [1464].



(6.33)



(6.34)



(6.35)



(6.36)

Известно несколько эффективных антагонистов аминокислот. У млекопитающих 1-аминоциклопентан-1-карбоновая кислота (6.34) препятствует

<sup>1</sup> Подробнее о проницаемости мембран см. гл. 2, разд. 2.

включению валина. Механизм ее действия состоит в том, что она препятствует присоединению валина к соответствующей тРНК [161]. Это соединение находит применение в экспериментальной онкологии. В гл. 10, разд. 5 мы будем говорить о летальном включении этионина вместо метионина и *n*-фторфенилаланина вместо фенилаланина. Нарушение включения аминокислот в белок, вызываемое пуromицином и хлорамфениколом, было описано в гл. 1, разд. 4, б (оба эти антибиотика, по-видимому, служат в известной мере антагонистами аминокислотнуклеотидов).

О механизме действия оксалицидина (6.35) (прежнее название циклосерин) известно больше, чем о каком-либо другом антибиотике. Оксалицидин, D-4-амино-3-изоксазолон, вызывает гибель бактерий, но его действие снимается своевременным добавлением D-аланина в среду. Совершенно ясно, что оксалицидин представляет собой структурный аналог D-аланина (6.36). Было обнаружено, что оксалицидин ингибирует *in vitro* два изолированных фермента: а) фермент, ответственный за рацемизацию L-аланина в DL-аланин, и б) фермент, катализирующий синтез D-аланил-D-аланина из D-аланина [1387]. Оксалицидин связывается с этим последним ферментом в сто раз более прочно, чем D-аланин, с которым оксалицидин свободно (обратимо) конкурирует. Все остальные ферменты при этом остаются незатронутыми. Дипептид D-аланил-D-аланин представляет собой концевой структурный элемент различных пептидов, из которых бактерии синтезируют свои защитные клеточные оболочки (гл. 10, разд. 2); если он отсутствует, то бактерии погибают, как только вступают в фазу роста.

Стафилококки в присутствии оксалицидина накапливают нуклеотид, состоящий из уридинфосфата, связанного с трипептидом D-аланил-D-глутамил-L-лизинном через ацетилмуравовую кислоту. Если в культуральную среду ввести D-аланил-D-аланин, завершается синтез пентапептида, необходимого для создания клеточных оболочек (гл. 1, разд. 3, а). Таким образом, оксалицидин препятствует синтезу, а не включению D-аланил-D-аланина. Не влияет оксалицидин и на включение L-аланина. Было обнаружено, что L-оксалицидин (энантиоморфный изомер природного D-оксалицидина) не обладает способностью препятствовать синтезу D-аланил-D-аланина [1385, 1387].

Интересно сравнить механизмы действия оксалицидина и пенициллина. Оба они представляют собой аналоги аминокислот, оба нарушают метаболизм D-аланина (на разных, однако, стадиях) и, следовательно, оба препятствуют образованию новых клеточных оболочек. Но пенициллин в конце концов образует с соответствующим ферментом ковалентную связь, т. е. в отличие от оксалицидина он не является конкурентным ингибитором и его действие необратимо (гл. 10, разд. 2).

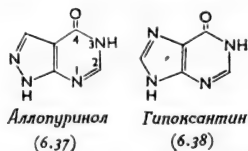
Оксалицидин применяют для лечения упорных инфекционных заболеваний мочевых путей у человека [495]. Однако если ежедневная доза оксалицидина превышает 0,75 г, то у больных появляются выраженные симптомы психического расстройства.

Амитрол (1.24) (3-амино-1,2,4-триазол) представляет собой очень распространённый гербицид. Он вызывает накопление имидазолглицерофосфата в дрожжевых клетках и, таким образом, действует, по-видимому, как аналог имидазола [1523]. Ингибирующее влияние амитрола на рост дрожжей, а также водоросли *Prototheca* снимается гистидином (9.2) [293].

Антибиотик азасерин (O-диазаацетил-L-серин), который применяется в химиотерапии рака в качестве агента, осуществляющего последовательное блокирование, представляет собой структурный аналог глутамина и поэтому нарушает биосинтез пуринового ядра на одной из самых ранних стадий — стадии образования аминидовой группировки [250].

В гл. 10, разд. 5 описано летальное включение аналогов природных пуринов и пиримидинов и приводятся примеры активности этих соединений в качестве антиметаболитов.

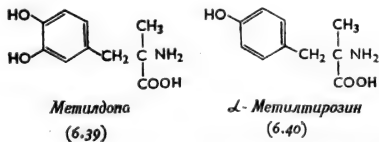
Аллопуринол (6.37) является аналогом гипоксантина (6.38). В отличие от аналогов пуринов, описанных в гл. 10, разд. 5, аллопуринол не включается в состав нуклеотида и действие его не связано с образованием каких бы то ни было ковалентных связей. Аллопуринол, 4-оксипиразол[3,4-*d*]пиримидин, представляет собой одно из самых эффективных средств, позволяющих снижать содержание мочевой кислоты у больных, страдающих подагрой или заболеваниями, сопровождающимися выделением избыточного количества мочевой кислоты. Действие аллопуринола при употреблении *per os* не сопровождается побочными эффектами. Механизм его действия состоит в том, что он блокирует окисление гипоксантина (в ксантин) ферментом ксантиноксидазой. Небольшая часть введенной в организм дозы препарата окисляется в соответствующий 2,4-дioxипиразолопиримидин (аллоксантин), обладающий способностью блокировать реакцию окисления ксантина в мочевую кислоту, катализируемую тем же ферментом [475].



Ниже мы рассмотрим отдельные аналоги азотсодержащих гормонов, хотя часть из них, а именно аналоги ацетилхолина, описываются отдельно, в гл. 11, разд. 4, в.

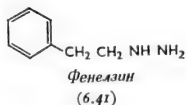
$\alpha$ -Метилдопа (6.39) (2-метил-3',4'-диоксифенилаланин; альдомет) — пероральный препарат, применяемый в клинике для снижения кровяного давления [576]. В организме это соединение декарбоксилируется и гидроксилируется с образованием 2-метилнорадреналина, который вытесняет норадреналин из мест его накопления; при этом сам он также может высвобождаться и функционировать в качестве малоактивного «псевдомедиатора» [760]. Было обнаружено, что в результате повторного введения  $\alpha$ -метилтирозина (6.40), метильного производного предшественника допа (6.39), содержание норадреналина в головном мозгу и других органах постепенно снижается вплоть до концентраций, не поддающихся определению [1357].

В гл. 4, разд. 6, в было рассмотрено действие дихлоризопреналина (4.38), который служит антиметаболитом адреналина; дихлоризопреналин действует на соответствующие  $\beta$ -рецепторы. Там же рассмотрен вопрос о выделении катехоламинов (пирокатехинаминов) из мест их депонирования под влиянием тирамина и других простых по структуре фенилэтиламинов. В гл. 11, разд. 4, а, излагается гипотеза Беллб касательно антагонистического действия дибенамина (11.12) на активность катехоламинов; согласно этой гипотезе, взаимоотношения дибенамина и катехоламинов также следует рассматривать как обобщный случай антагонизма метаболита и его аналога.

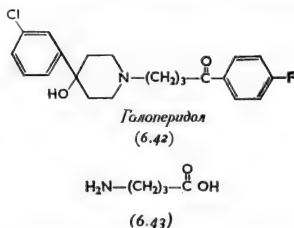


Многие производные гидразина, например фенелзин (6.41), блокируют фермент моноаминоксидазу. В результате происходит накопление аминов, вызывающих повышение артериального давления (например, тирамина).

Фенелзин и некоторые близкие к нему по структуре гидразины применялись в случаях глубокой психической депрессии. К сожалению, восстановление активности фермента происходит настолько медленно, что эффект от действия подобных производных гидразина, даже если они применяются в очень малых дозах, оказывается слишком длительным. Эти соединения не вызывают повышения содержания свободных катехоламинов в головном мозгу [1468].



Было высказано предположение [776], что транквилизатор галоперидол (6.42) (серенас) действует как аналог  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (6.43), которая представляет собой тормозный «гормон» центральной нервной системы [384].



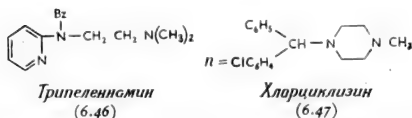
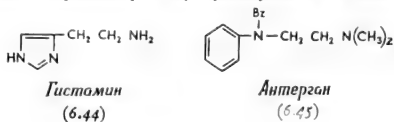
Близкое к нему по структуре лекарственное вещество, триперидол, обладает аналогичным терапевтическим действием.

Из наиболее эффективных лекарственных веществ-антагонистов метаболитов следует в первую очередь назвать вещества, обладающие антигистаминным действием. Целенаправленный синтез антиметаболитов гистамина (6.44) впервые был осуществлен Бовэ в 1937 г. Его обзор, посвященный вопросу о связи между структурой и биологическим действием [207], читается с большим интересом.

Антигистаминным действием обладают многочисленные производные N,N-диметилендиамина ( $pK_a$  9,5 и 6,6) с ароматическими (или гетероароматическими) заместителями у N'. В молекуле гистамина группой с более выраженными основными свойствами является алифатический амин ( $pK_a$  9,8); вторая основная группа образована двумя атомами азота кольца, которые функционируют как единая группа за счет резонанса. Одно из самых первых антигистаминных веществ, синтезированных Бовэ, антерган (6.45), отличается от гистамина тем, что вместо имидазольного кольца содержит N-бензиланилин ( $pK_a \sim 3,5$ ). Значительно более активные вещества получаются при замещении имидазольного кольца гистамина на остаток 2-аминопиридина ( $pK_a$  6,9). В результате были созданы такие препараты, как мепирамин (неоантерган, антизан) и трипеленнамин (6.46) (пирибензамин), оказавшиеся высокоэффективными лекарственными средствами. В дальнейшем было разработано много других методов получения активных соединений с антигистаминным действием. Так, например, эффективными оказались препараты, в которых два атома азота этилендиамина (см. выше) соединены цепочкой из двух насыщенных атомов углерода таким образом, что образуется

пиперазиновое кольцо, как, например, в хлорциклизине (6.47) (гистантин, дипарален).

Антигистаминные препараты служат антагонистами физиологических функций гистамина в различных тканях организма. Взаимоотношения между ними подчиняются обычным для явлений антагонизма количественным закономерностям. Гистаминорецепторы, присутствующие в подвздошной кишке

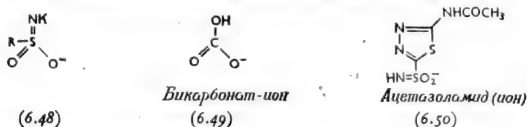


и бронхах, служат типичным примером рецепторов, на которые антигистаминные средства действуют по принципу антагонизма. Существуют, однако, гистаминорецепторы, на которые эти препараты не оказывают антагонистического действия: это относится, в частности, к рецепторам, ответственным за стимуляцию секреции соляной кислоты в желудке, стимуляцию сокращения предсердия (изолированного) и расслабление мускулатуры матки.

Далее речь пойдет о некоторых аналогах простых соединений.

Многие цветоводы и поставщики семян смачивают почву 0,1%-ным раствором селенита натрия, который в такой концентрации для растений нетоксичен. Тли, красные пауки и другие сосущие насекомые погибают, отравленные соком этих растений, потому что соединения селена являются антиметаболитами производных серы, участвующих в метаболизме насекомых. Следует иметь в виду, что эти растения токсичны и для млекопитающих, поэтому для обработки посевов зерновых культур растворы производных селена не применяются.

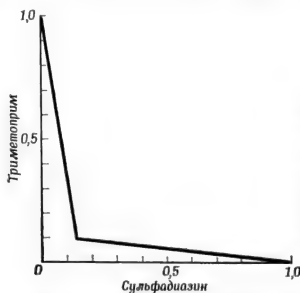
Было обнаружено, что под влиянием сульфаниламида куры несут яйца без скорлупы [961]. Оказалось, кроме того, что сульфаниламид вызывает щелочной диурез [1146]. Оба эти наблюдения в конце концов привели к выяснению того факта, что сульфамид-анион (6.48) обладает способностью препятствовать доступу бикарбонат-аниона (6.49) к ангидразе угольной кислоты. Этого не происходит, если =NH-группа содержит какие-то неметаболизируемые группы и, следовательно, большинство сульфамидов подобным действием не обладают. Таким образом, получается, что к соединениям, способным конкурировать с бикарбонат-анионом, предъявляются более строгие требования в смысле структурного соответствия, чем к тем соединениям, которые конкурируют с *n*-аминобензойной кислотой (см. выше разд. 3).



Результаты этих исследований обнаружили целесообразность введения в состав аниона (6.48) в качестве R гетероциклических группировок для того, чтобы получить соединения, в большей степени ионизированные, чем произ-



Примером использования способа последовательного блокирования в терапии может служить совместное применение сульфадиазина и пириметаминна (дараприма) при токсоплазмозе у мышей и человека [492, 1521]. При этом сульфадиазин блокирует включение *n*-аминобензойной кислоты в молекулу дигидрофолиевой кислоты, а дараприм тормозит реакцию восстановления дигидрофолиевой кислоты [689]. Аналогичным образом эффективность лечения малярии у птиц при совместном применении дараприма и сульфаниламидных препаратов значительно выше, чем при использовании каждого из них в отдельности [1222]. То же самое оказалось справедливым,



Фиг. 34. Синергический эффект от совместного применения триметоприма и сульфадиазина на мышах, инфицированных *Proteus vulgaris*.

Единицы на осях соответствуют такой дозе каждого из лекарственных веществ, при которой максимальное количество выживающих мышей составляет 50%. Каждая точка на кривой представляет собой комбинацию дробных частей этих доз (для сульфадиазина единичная доза равна 0,14 мг, а для триметоприма — 4 мг на мышь [690]).

в частности, для действия пириметаминна и сульфадиазина при трех главных формах малярии у человека. При совместном применении пириметаминна и сульфадиазина в дозах, не превышающих 0,1 и соответственно 0,25 их минимальной эффективной дозы, оказывают то же действие, что каждый из них в отдельности в минимальной эффективной дозе [734].

Весьма вероятно, что в тех случаях, когда синергизм не удастся объяснить на основе развитых Вельдстра представлений о «местах потерь» (гл. 2, разд. 3), мы имеем дело с последовательным блокированием, хотя не исключена также возможность параллельного блокирования альтернативного пути. Выраженный синергический эффект, который обнаруживается при совместном применении пенициллина и стрептомицина [778], следовало бы также проанализировать под этим углом зрения.

Фиг. 34 иллюстрирует синергический эффект от совместного применения сульфадиазина и триметоприма (6.26). Этот эффект, обусловленный последовательным блокированием, используется в настоящее время в медицинской практике.

## 6. Аналоги метаболитов, образующие ковалентные связи

Известны случаи, когда какой-нибудь агент сначала притягивается ферментом (или рецептором), с которым обычно взаимодействует природный метаболит, а затем ковалентно связывается с этим ферментом. Так, например, пенициллин (10.7) (гл. 10, разд. 2), который является, по-видимому, антиметаболитом D-аланил-D-аланина, не находится с этим последним во взаимоотношениях свободной конкуренции при взаимодействии с транспептидазой; вероятно, пенициллин необратимо соединяется с этим ферментом ковалентной связью. Еще один пример: иодметилат пиридин-2-альдоксима (10.26) благодаря наличию в его молекуле четвертичной аммониевой группы пировки взаимодействует с тем участком ацетилхолинэстеразы, который предназначен для четвертичной аммониевой группы ацетилхолина, и если этот фермент инактивирован в результате фосфорилирования, то при дей-



ствии антидота (10.26) его активность восстанавливается, так как происходит перенос фосфорильного остатка с фермента на гидроксильную группу антидота (гл. 10, разд. 3).

Естественно предположить, что можно создавать также другие ценные лекарственные агенты путем синтеза соединений, обладающих свойствами антиметаболитов (т. е. способностью адсорбироваться на ферменте), и содержащих кроме того в молекуле заместитель, способный образовывать ковалентную связь с ферментом и тем самым необратимо инактивировать его. Бейкер, используя в качестве экспериментальной модели дегидрогеназу молочной кислоты, обнаружил, что существуют алкилирующие ингибиторы двух типов: одни алкилируют в ферменте активный центр, который обычно связывает нормальный метаболит; ингибиторы же второго типа алкилируют в ферменте другие центры. Ингибиторы, принадлежащие к первой группе, называются *эндоалкилирующими* агентами, а относящиеся ко второй — *экзоалкилирующими* агентами. 4-Иодацетамидосалициловая кислота (6.52), принадлежащая к группе экзоалкилирующих соединений, является аналогом салициловой кислоты, образующей неустойчивые комплексы с глутамат- и лактатдегидрогеназой. Незамещенный иодацетамид не ингибирует эти ферменты; однако иодацетамидогруппа, входящая в состав молекулы (6.52), подавляет активность этих дегидрогеназ, так как благодаря структурному сходству молекул (6.52) с салициловой кислотой ингибитор адсорбируется на ферменте [96]. Можно рассчитывать, что использование этого приема в дальнейшем будет способствовать созданию новых эффективных лекарственных средств.

### 7. Антагонисты метаболитов, которые не являются их аналогами

Антагонистами метаболитов могут быть не только их аналоги. В самом деле, существуют соединения, не обнаруживающие никакого сходства с метаболитами, и тем не менее способные взаимодействовать с апоферментом, коферментом или субстратом или разрушать их [517]. Единственное, что для этого требуется, — это наличие сильно выраженного химического средства, которое очень часто приводит к образованию ковалентной связи. В отличие от аналогов метаболитов эти антагонисты не вытесняются субстратами. Примером такого антагониста может служить фермент тиаминаза, который расщепляет тиамин на две составные части, из которых одна содержит соответствующее пиримидиновое, а другая — тиазольное кольцо. В связи с этим у животных, которые употребляют в пищу сырую рыбу, содержащую этот фермент, развиваются признаки недостаточности тиамина [579].

Наличие конкурентных взаимоотношений между двумя соединениями еще не означает, что одно из них непременно представляет собой метаболит. Так, например, сильные сокращения кишечника, вызванные хлористым барием, конкурентно снимаются сульфатом натрия (который вовсе не является нормальным компонентом содержимого кишечника). Все дело в том, что между этими двумя соединениями происходит химическая реакция, в результате которой токсичный ион бария осаждается в виде нерастворимого сульфата. Прежде чем отнести какое-нибудь вещество к группе метаболитов, нужно, очевидно, установить, что оно встречается в природе, а также выяснить его происхождение и функции. Морфин и аллиломорфин служат примером такой пары соединений, которые конкурируют друг с другом, хотя ни один из них природным метаболитом не является [1447] (гл. 4, разд. 3).

Исследованиями механизма действия лекарственных веществ, не являющихся метаболитами, но вступающих в антагонистические отношения друг с другом, способствовало введение Шильдом [1273] в употребление выраже-

ния  $ра_x$ . Это отрицательный логарифм молярной концентрации антагониста, при которой эффект, полученный от  $x$ -кратной дозы лекарственного вещества, уменьшается до эффекта, получаемого от одной дозы. Удобно при этом пользоваться значениями  $x$ , равными 2 и 10. Оказалось, что эта концепция справедлива и в тех случаях, когда лекарственный препарат и его антагонист конкурируют за один и тот же рецептор, и конкуренция, как это обычно бывает, происходит в соответствии с законом действия масс.

Значения  $ра_x$  могут быть использованы для классификации лекарственных веществ, поскольку, надо полагать, только те из них, которые действуют на те же рецепторы, что и ингибитор, имеют одинаковые с ним значения  $ра_x$ . Более того, определенную пару лекарственное вещество — ингибитор можно изучать на различных тканях. Если значения  $ра_x$  окажутся при этом одинаковыми, то это значительно повысит вероятность того, что рецепторы в этих тканях одни и те же [82].

## 8. Фармакогенетика

При исследованиях ингибиторов ферментов всегда следует учитывать, что наборы ферментов у отдельных индивидуумов могут отличаться от того, что характерно для популяции в целом. Так, например, у многих людей, особенно в странах Африки и Среднего Востока, отмечается дефицит фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Этот биохимический дефект, наследуемый вместе с неполностью доминантным сцепленным с полом геном, не приносит этим людям никаких неприятностей, до тех пор пока их не начинают лечить от малярии примихином (2.20); тогда у них очень быстро развивается гемолитическая анемия [167]. Непосредственной причиной, вызывающей анемию, служит гемолитический хинин, образующийся на первой стадии в цепи метаболических превращений: этот хинин не может быть разрушен из-за отсутствия названного фермента.

Известны и другие случаи, когда отсутствие того или иного фермента обнаруживалось у отдельных индивидуумов после того, как у них выявлялась неблагоприятная реакция на то или иное лекарственное вещество. У европейцев способность к ферментативной детоксикации изониазида контролируется генетически. Этим и объясняется, что у разных людей средние концентрации изониазида в плазме могут сильно различаться (в четыре раза). Тот же ген контролирует и реакцию ацетилирования сульфаниламидных препаратов. У различных индивидуумов скорость, с которой в организме происходит разрушение антикоагулянтов группы кумарина, часто сильно различается (могут наблюдаться десятикратные различия), что затрудняет определение начальной дозы антикоагулянта для каждого нового больного.

Достаточно полная информация по этим вопросам содержится в работах [489, 797, 985]<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> См. также обзор Рапопорта И. А. «Токсикогенетика», в серии Итоги науки. Фармакология и токсикология, изд-во ВИНТИ АН СССР, М., 1961.— *Прим. ред.*

# Влияние метильных групп на биологическое действие

## Введение

Часто можно встретить два близких по химическому строению вещества, из которых одно обладает выраженной биологической активностью, тогда как другое совсем ее не обнаруживает. Как же объяснить, почему вещества, отличающиеся друг от друга только наличием или отсутствием в молекуле одной метильной группы, так различно ведут себя в условиях биологического эксперимента?

Настоящая глава посвящена исследованию влияния метильных и метиленовых групп, т. е. групп, которые относят к «химически инертным». При надлежащем расположении эти группы могут существенно изменить химический характер молекулы в соответствии с хорошо известными пространственными и электронными влияниями. При этом химические изменения согласуются с изменениями в биологических свойствах.

## 1. Влияние стерических факторов

Существует два типа стерических эффектов, обусловленных наличием в молекулах небольших инертных групп. Эффекты первого типа обнаруживаются даже в водных растворах (см. ниже, разд. а, б и в настоящей главы). Эффекты второго типа труднее поддаются наблюдению, так как для того, чтобы они могли проявиться, требуется наличие соответствующей частично комплементарной поверхности, как это наблюдается, например, в ферментативных реакциях, описанных в разд. г.

### а. Влияние стерических факторов на растворимость

Можно было бы предположить, что введение в молекулу метильной группы всегда приводит к уменьшению растворимости соединения в воде. Действительно, метильная группа обладает гидрофобными свойствами (приложение III) и вследствие этого она обычно снижает растворимость. Но известны и интересные исключения из этого правила. В табл. 20 приведены значения растворимости в воде для некоторых алифатических спиртов. Из этих данных видно, что амиловые спирты с разветвленной цепью обладают большей растворимостью, чем изомерные им неразветвленные соединения. Этого и следовало ожидать, так как между молекулами воды существуют прочные водородные связи. Для того чтобы вещество смогло раствориться в воде, нужно раздвинуть молекулы воды, т. е. разорвать водородные связи. Это легко достигается в случае низших спиртов, метанола и этанола, благодаря тому, что гидроксильные группы, составляющие значительную часть их молекул, способны к образованию водородных связей почти так же, как и в молекулах воды.

В то же время у высших спиртов решающее значение приобретает алифатическая боковая цепь, которая неспособна проникать в промежутки между молекулами воды и раздвигать их и потому вытесняется из воды, увлекая за собой всю молекулу. Этот эффект значительно ослаблен у тех спиртов, у которых гидроксильная группа расположена ближе к середине

Таблица 20

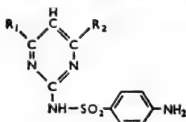
**Растворимость амиловых спиртов в воде**  
(г на 100 г воды при 20°) [581]

Спирт	Растворимость (при 20°), г/100 г воды
$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$	2,4
$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_3$	4,9
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	12,2
<i>n</i> -Бутанол (для сравнения)	8,2

молекулы (как это, например, характерно для третичного амилового спирта): интересно отметить, что растворимость третичного амилового спирта в воде даже больше, чем растворимость *n*-бутанола. Не менее поразительно и то, что растворимость  $\alpha$ -аминомасляной кислоты в воде выше, чем растворимость  $\alpha$ -аминопропионовой кислоты (аланина). Это можно объяснить способностью более длинной цепи масляной кислоты изгибаться [332].

Таблица 21

**Увеличение растворимости в воде,  
обусловленное введением метильных групп [579]**



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Лекарственный препарат	pK <sub>a</sub>	Степень ионизации при pH 5,2, %	Растворимость при pH 5,2 (37°), г-мо./г-л
H	H	Сульфадиазин	6,5	3,9	0,0005
CH <sub>3</sub>	H	Сульфамеразин	7,1	1,4	0,0013
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Сульфадимидин	7,4	0,7	0,0024

В ряду сульфамидпиримидиновых препаратов введение метильных групп резко повышает растворимость (табл. 21). На первый взгляд это кажется странным, так как эти вещества представляют собой кислоты и добавление каждой новой метильной группы снижает степень ионизации кислотной группы ( $\text{SO}_2\text{NH}-$ ) за счет индукционного эффекта метильных групп (которые смещают электроны в сторону  $\text{NH}$ -связи и таким образом усиливают притяжение между атомами водорода и азота). Пожалуй, трудно было бы предсказать, что сульфадиазин окажется менее растворимым, чем его метильные производные, уже по одной той причине, что он имеет наибольшую степень ионизации из всех членов этого ряда, а ионы, как правило, обладают более высокой растворимостью, чем нейтральные молекулы. Такого же аномального влияния метильных групп можно ожидать и в других соединениях,

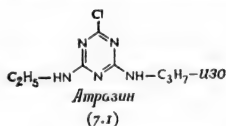
сходных по сложности и жесткости своей структуры. Очевидно, выступающие метильные группы затрудняют адсорбцию растворенного вещества на кристаллической решетке твердой фазы. Это приводит в конечном счете к смещению равновесия в сторону повышенной растворимости.

Количественные определения растворимости, результаты которых приведены в табл. 21, были произведены при pH 5,2, так как именно в этих условиях практически происходит дезинфекция мочевых путей, а также выведение лекарственного вещества почками<sup>1</sup>. Такая же последовательность значений растворимости была получена при pH 6 и 7.

Гербициды, являющиеся производными несимметричного триазина, например атразин (7.1), лучше растворимы в воде, чем низшие симметричные гомологи, например, симазин (1.18). Растворимость этих двух веществ в воде при 25° равна соответственно 70 и 5 частей на 1 млн. Вследствие этого для листьев атразин значительно более токсичен.

Примеры резкого изменения биологической активности, вызванного введением одного инертного заместителя, можно найти в любом гомологическом ряду. Обычно в гомологическом ряду наблюдается повышение биологической активности при переходе к каждому следующему члену ряда<sup>2</sup>, однако такое увеличение активности имеет определенный предел, характеризующийся тем, что последующее прибавление группы  $-\text{CH}_2$  влечет за собой резкое уменьшение или даже полное исчезновение биологической активности.

Этот резкий перелом в разных гомологических рядах отмечается по достижении различных членов (для разных тест-объектов).



Неудивительно, что по мере удлинения цепи токсичность возрастает, так как каждая дополнительная метиленовая группа создает возможность образования еще одной связи за счет сил Ван-дер-Ваальса. А это означает повышение адсорбционной способности, обеспечивающей связь с рецепторами организма. При этом не происходит увеличения десорбиционных сил, так как кинетическая энергия каждой молекулы имеет одно и то же значение независимо от ее размера. Однако резкое уменьшение биологической активности оставалось непонятным до тех пор, пока Фергюсон [510] не показал, что логарифмы эквитоксических концентраций различных членов гомологического ряда лежат на одной прямой<sup>3</sup>. Логарифмы растворимости также лежат на прямой, причем эти две прямые не параллельны друг другу, и именно в точке, в которой они пересекаются<sup>4</sup>, отмечается упомянутый скачок в биологической активности в данном гомологическом ряду. В гл. 14, разд. 1 этот эффект будет рассмотрен с точки зрения зависимости термодинамической активности и концентрации.

На фиг. 35 изображены графики зависимости логарифма токсических концентраций первичных спиртов от логарифма их растворимости в воде.

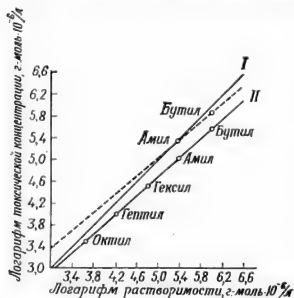
<sup>1</sup> Все три лекарственных препарата менее растворимы в воде, чем их ацетильные производные; в противном случае большее значение имели бы данные о растворимости этих последних.

<sup>2</sup> Указанная закономерность носит название правила Ричардсона.— *Прим. ред.*

<sup>3</sup> Многочисленные зависимости подобного рода приводятся в монографии Лаза-рева Н. В. «Неэлектролиты», Л., 1944.— *Прим. ред.*

<sup>4</sup> См. также работу Филова В. А. в сб. «Труды научной сессии Ленинградского НИИ гигиены труда и профзаболеваний, посвященной итогам работы за 1958 г.», Л., 1959, 223—231.— *Прим. ред.*

На этой фигуре можно видеть, что грамотрицательный организм *B. typhosus* крайне чувствителен к первичным спиртам. Даже для такого представителя высших спиртов, как октиловый, летальная концентрация не превышает предела его растворимости. В то же время грамположительный *Staphylococcus aureus* менее чувствителен к спиртам, так что бактерицидный эффект для этого микроорганизма достигается при более высокой концентрации. В результате резкое исчезновение биологической активности наблюдается на уровне амипового спирта, поскольку экстраполированная для гексилового спирта летальная концентрация превышает его растворимость (см. также [89]). Показанная на фиг. 35 пунктиром «кривая насыщения» идет под углом  $45^\circ$ , т. е. логарифм растворимости в каждой точке равен логарифму токсической концентрации.



Фиг. 35. График зависимости бактерицидной концентрации нормальных первичных спиртов от их растворимости.

I — *Staphylococcus aureus*; II — *Bacillus typhosus*; пунктирная линия — кривая насыщения.

рация, при которой начинается от амина  $C_{12}$  к амину  $C_{14}$  падает с 0.01 до 0.003 [830]. Содержание мономера (неассоциированных молекул) уменьшается при переходе к каждому следующему члену гомологического ряда, даже в умеренно разбавленных растворах. Если предположить, что бактериальные рецепторы и мицеллы конкурируют друг с другом в захвате неассоциированных молекул (что вполне вероятно), то легко понять, каким образом это снижение концентрации мономера может привести к резкому уменьшению биологической активности.

## 6. Влияние стерических факторов на ковалентную гидратацию

Тот факт, что на кривой потенциометрического титрования 6-оксиптеридина имеется перегиб [32], помог обнаружить, что многие азотсодержащие гетероциклические соединения, хотя бы в виде одной из своих ионных форм, способны ковалентно присоединять воду по двойной связи (обзор литературы по этому вопросу см. [30, 1118]). Так, например, нейтральная молекула хиनाзолина в водном растворе представляет собой в основном безводную форму (7.2), но его катион существует главным образом в форме гидрата (7.3) [31].

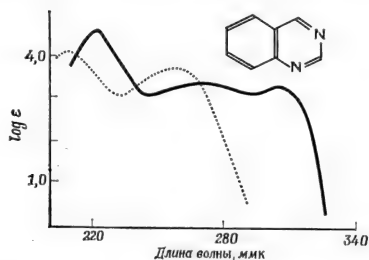
Ковалентную гидратацию часто обнаруживают по аномалиям в ультрафиолетовых спектрах и константах ионизации. Так, спектр хиназолина при

для веществ воображаемого ряда, обладающих оптимальной активностью в насыщенных растворах.

Иногда утрата биологической активности при испытании высших гомологов может объясняться иными причинами. Например, у первичных алифатических аминов кривые растворимости и токсичности расположены одинаковым образом. Однако максимум токсичности в отношении большинства бактерий достигается для соединений с числом углеродных атомов, близким к 12 (додециламин), а при добавлении к длинной алифатической цепи еще одного или двух атомов углерода происходит резкое снижение антибактериальной активности [545]. Следует отметить, что это происходит у тех гомологов, которые при дальнейшем удлинении цепи начинают быстрее образовывать мицеллы (гл. 12, разд. 1).

Так, например, критическая концент-

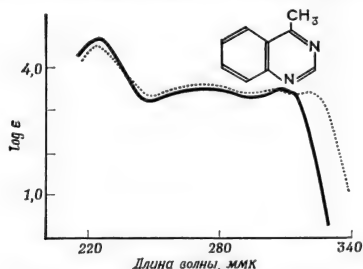
подкислении раствора неожиданно сильно смещается в сторону более коротких волн (фиг. 36), а значение  $pK_a$  у него равно не 1,9, как следовало ожидать, а 3,51 (равновесное значение). Если с углеродным атомом, атакуемым



Фиг. 36. Ультрафиолетовый спектр хиназолина в воде.

Сплошная линия — спектр нейтральной частицы, пунктирная — спектр катиона.

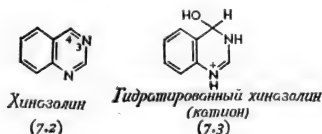
ОН-группой воды, связана метильная группа, то ковалентная гидратация сильно подавлена. Этот эффект зависит главным образом от стерических



Фиг. 37. Ультрафиолетовый спектр 4-метилхиназолина в воде.

Сплошная линия — спектр нейтральной частицы, пунктирная — спектр катиона.

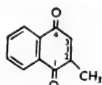
факторов [31]. В случае 4-метилхиназолина эти же стерические факторы вызывают нормальное смещение спектра при подкислении (фиг. 37), и для него величина  $pK_a$  равна 2,52, что совпадает с расчетами.



Птеридин (7.4) обнаруживает более высокую склонность к гидратации, чем хиназолин; даже его нейтральная молекула гидратирована на 22% (в водном растворе при 20°). Но и в этом случае введение метильной группы в положении 4 в значительной степени препятствует гидратации как самого птеридина, так и 2-аминоптеридина [43] и 2-оксиптеридина [42]. Точно так же введение метильной группы в положение 7 6-оксиптеридина препятствует его гидратации [45], которая происходит обычно по двойной связи 7,8 [237].



Птеридин  
(7.4)



Менсфтон  
(7.5)

Появление в результате ковалентной гидратации новой гидроксильной группы, как показано на формуле (7.3), приводит к снижению коэффициента распределения в системе масло/вода и, следовательно, к уменьшению способности проходить через мембраны. Вот почему наличие метильной группы в соответствующем месте может способствовать проникновению через мембраны, во много раз ускоряя его.

Вполне вероятно, что окислению пуринов при участии ксантиноксидазы предшествует их ковалентная гидратация, хотя в равновесной смеси может содержаться лишь небольшое количество гидратированной формы.

#### *в. Влияние стерических факторов на хелатообразование*

Антибактериальное действие 8-оксихинолина (о котором будет подробно рассказано в гл. 9, разд. 7) в значительной степени подавляется при введении метильной группы в положение 2 [49]. Этот эффект метильной группы, по всей вероятности, обусловлен стерическими препятствиями при контакте активного участка с биологической поверхностью. Даже просто в растворе 2-метил-8-оксихинолин способен при комплексобразовании различать катионы  $Al^{3+}$  и  $Fe^{3+}$ , что также связано со стерическим влиянием метильной группы. Другие примеры стерических затруднений, вызываемых метильной группой, будут приведены в гл. 9, разд. 4.

#### *г. Влияние стерических факторов на рецепторы и ферменты*

Для того чтобы соответствовать рецептору ацетилхолина (и, следовательно, имитировать мускариновое действие этого медиатора нервного возбуждения), молекула должна содержать четвертичный атом азота, у которого один из заместителей должен представлять собой прямую цепь из пяти атомов (гл. 11, разд. 4, в). Добавление еще хотя бы одной метиленовой группы в эту цепь вызывает утрату биологической активности. Активность будет максимальной в том случае, если два из остальных заместителей, связанных с атомом азота, представляют собой метильные группы; замена одной из этих групп на атом водорода или этильную группу приведет к резкому снижению биологической активности.

Ферменты также часто обладают настолько высокой специфичностью, что введение или удаление одной метильной группы в молекулу субстрата или кофермента может привести к резкому уменьшению их биологической активности или даже к полной ее утрате. Тиамин в форме дифосфотиамина служит коферментом, катализирующим крайне важную для биологических систем реакцию декарбоксилирования пировиноградной кислоты; сам он при этом не окисляется и не восстанавливается. О том, как изменяется биоло-



гическое действие тиамин при добавлении или удалении всего лишь одной метильной группы, рассказано во введении к гл. 5. Аналогичным образом введение в гормональный препарат стильбэстрол метильных групп в *орто*-положение к фенольным гидроксильным группам приводит к тому, что его эстрогенное действие сменяется антиэстрогенным [322].

Другим примером вещества, утрачивающего свое сильно выраженное биологическое действие после введения метильной группы (в положение 2), служит гетероауксин, или индолилуксусная кислота (11.11), один из природных регуляторов роста растений. В то же время присутствие метильной группы в положении 2 абсолютно необходимо для реализации биологической активности витаминов группы К, например менаптона (7.5) (см. также ниже).

Иногда метильная группа нарушает пространственное соответствие лекарственного препарата деструктивному ферменту и тем самым повышает его биологический эффект. Так, амфетамин (4.37) (1-метил-2-фенилэтиламин) обладает значительно более продолжительным гипертензивным действием, чем 2-фенилэтиламин. Это объясняется устойчивостью амфетамина к разрушительному действию аммонооксидазы, которая быстро разлагает пазийный гомолог — 2-фенилэтиламин [487]. Таким же образом можно усилить действие кортикостероидов и стероидных половых гормонов введением метильной группы или фтора; так были получены многие эффективные лекарственные препараты. Такие, казалось бы, инертные заместители, возможно, оказывают защитный эффект, уменьшая их соответствие деструктивным ферментам [1200].

Некоторые однодольные сорняки содержат фермент, способный разрушать боковую цепь производных феноксиуксусной кислоты, в связи с чем эти гербициды против таких сорняков неэффективны. Однако на следующего члена гомологического ряда (феноксипропионовые кислоты) этот фермент не действует, и потому их можно с успехом применять в подобных случаях.

## 2. Электронные влияния

Метильная группа — одна из немногих электронодонорных групп, которые отдают электроны в любых условиях независимо от того, происходит это за счет индукции или мезомерии.

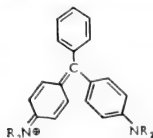
### а. Электронные влияния на ионизацию и восстановление

Электронодонорная метильная группа, связанная с атомом углерода, повышает основность и снижает кислотность. Присоединение метильной группы к атому азота, т. е. образование вторичного амина приводит к увеличению основности, однако третичные амины обычно слабее, чем вторичные. Такие изменения основности обычно невелики и не превышают одной единицы  $pK$ , но они могут повлиять на биологическое действие, если  $pK$  отличается от  $pH$ , при котором проводится биологический эксперимент, не более чем на одну единицу (гл. 8, разд. 1). В таких случаях разница в единицу  $pK$  может повести к тому, что одно из двух лекарственных веществ окажется ионизованным в 5 раз сильнее. Если, как это часто бывает, одна из ионных форм (например, катионы) намного активнее в биологическом отношении, чем нейтральная молекула, то такое изменение ионизации может определить наличие или отсутствие биологической активности (гл. 8, разд. 3).

Значительное увеличение основности в результате N-алкилирования наблюдается у трифенилметановых красителей (об их довольно сложном химическом поведении будет рассказано в гл. 8, разд. 2). Из данных, приведенных в табл. 22, видно, что антибактериальная активность находится в строгом соответствии со степенью ионизации исследованных веществ и вследствие этого зависит от присутствия «химически инертных» групп.

Таблица 22

Зависимость между понижацией и антибактериальной активностью в ряду трифенилметановых соединений [587]



Вещество	R (все четыре заместителя)	pK (в равновесном состоянии)	Степень ионизации при pH 7,3, %	Минимальная бактериостатическая концентрация для <i>Staphylococcus aureus</i> (24 часа при 37° и pH 7,3)
Фиолетовый Дёбнера	H	5,38	2	1 : 20 000
Малахитовый зеленый	CH <sub>3</sub>	6,90	28	1 : 80 000
Бриллиантовый зеленый	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	7,90	80	1 : 1 280 000

Смещение электронов от С-метильной группы приводит к снижению окислительно-восстановительного потенциала и в результате вещество становится более активным восстановителем и менее активным окислителем (т. е. оно становится более устойчивым к восстановлению)<sup>1</sup>, чем неметилированный его гомолог.

Так, введение метильной группы в молекулу 1,4-нафтохинона в положение 2, приводящее к образованию соединения (7.5), сопровождается снижением потенциала до +408 мв (т. е. на 76 мв) [516]. Потенциал +408 мв вполне достаточен для функционирования окислительного агента в живой клетке. С другой стороны, восстановительный потенциал НАД (никотинамид-адениндинуклеотид) равен —280 мв, и это значение так мало, что замещенный НАД с еще чуть более низким потенциалом, по всей вероятности, уже не способен к восстановлению в соответствующий НАД·Н. Если же он не может быть восстановлен в клетке, то он не может и выполнять жизненно важную функцию переносчика водорода, которую выполняет НАД. Возможно, что именно поэтому 2-метилникотинамид не обладает биологической активностью. Однако для решения вопроса о том, обусловлено ли влияние метильной группы в данном случае (а также в случае менафтона) стерическим или электронным эффектами, необходимо провести дополнительные эксперименты.

#### б. Электронные влияния на свойства канцерогенных углеводов

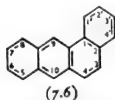
Зависимость между строением и биологическим действием канцерогенных веществ изучена гораздо лучше<sup>2</sup>, чем зависимость между строением и биологическим действием канцеростатических веществ. Очень подробно изучена роль метильных групп, придающих полициклическим углеводородам канцерогенные свойства. Было показано, что общей для этих веществ особен-

<sup>1</sup> В состоянии равновесия между окисленной и восстановленной формами (определенные этих потенциалов см. в гл. 9, разд. 4).

<sup>2</sup> Обширный материал к этому разделу содержится в монографии Б е д ж е р а Г. М. «Химические основы канцерогенной активности», изд-во «Медицина», М., 1966, снабженной при переводе существенными дополнениями. — Прим. ред.

ностью является присутствие фенантренового мостика (например, 3,4-связи в остатке 1,2-бензантрацена) (7.6), что, по-видимому, служит необходимым условием их канцерогенной активности [1210]. Этот мостик получил название области К. Сам по себе бензантрацен канцерогенными свойствами не обладает, но он приобретает их, если ввести метильную группу в положение 5,6,9 или 10 [118]. Из этих метильных производных бензантрацена наиболее сильными канцерогенными агентами оказались замещенные в положения 9 и 10. Если же заместитель стоит у фенантренового мостика (например, при введении метильной группы в положение 3), то канцерогенная активность сильно снижается. Возможное объяснение этого факта сводится к тому, что фенантреновый мостик должен быть, по-видимому, свободен от атомов, которые из-за своего объема могли бы помешать тесному сближению с каким-нибудь компонентом клетки.

Было выдвинуто предположение, согласно которому у полициклических углеводов канцерогенные свойства появляются только тогда, когда электронная плотность фенантренового мостика будет увеличена до 1,28e путем введения соответствующего заместителя (например, метильной группы) в надлежащее положение; пропорционально повышению электронной плотности увеличивается и канцерогенная активность. Эта гипотеза принадлежит Пюльманам [1164, 1165]. А. Пюльман и Б. Пюльман предполагают, что К-область обуславливает возможность для  $\pi$ -электронов ароматических углеводов образовывать связь с каким-то неизвестным компонентом клетки. Такое распределение  $\pi$ -электронов примерно соответствует *о*-хиноидной структуре [1166].



После нанесения на кожу мыши 1,2,5,6-добензантрацена, меченного  $C^{14}$ , был выделен с 25%-ным выходом продукт расщепления 2-фенилфенантрен-3,2'-дикарбоновая кислота. Это вещество связано с белком кожи ковалентной (диамидной) связью [169]. Хотя это и не является доказательством того, что канцерогенное действие углеводорода сопряжено с образованием ковалентной связи, все же становится очевидным, что такие углеводороды не настолько химически инертны, как можно было предположить. Кроме того, характер и положение образовавшейся ковалентной связи соответствуют *орто*-хиноидной гипотезе Пюльманов (см. выше).

Хотя гипотеза Пюльманов остается заслуживающей внимания и в настоящее время, ее ни в коем случае нельзя считать доказанной. Измерения сравнительной канцерогенной активности настолько неточны, что затруднительно на основании полученных данных дать правильную оценку какой бы то ни было гипотезе. В данном случае это усугубляется еще и неопределенностью, присущей расчетам электронных плотностей (эти расчеты проводятся лишь приближенно) [350].

Против гипотезы Пюльманов свидетельствует то обстоятельство, что 1'-, 2'-, 3'-, 4'-метилзамещенные 1,2-бензантрацены не обладают канцерогенной активностью, хотя у них и имеется фенантреновый мостик (область К) с достаточно высокой электронной плотностью [91].

Многие исследователи считают, что образование ковалентной связи не имеет никакого отношения к канцерогенности углеводов. Они утверждают, что эти вещества с трудом изменяются в ходе метаболизма, а метаболиты канцерогенной активностью не обладают, в то время как канцерогенная активность пропорциональна количеству неизмененного углеводорода, проникшего в ткани [154, 500]. Эти наблюдения делают необходимым

исследование электронных свойств путем измерений, а не только путем вычислений.

Как показала спектроскопия в ультрафиолетовом и видимом свете, канцерогенные углеводороды обладают сильными электронодонорными свойствами. Так, например, они отдают электроны поду [1399], хинонам типа хлоранила и ароматическим нитросоединениям типа тринитрофлюорена. Однако многие вещества обладают столь же сильными электронодонорными свойствами, не обнаруживая при этом никакой канцерогенности. Вообще же наиболее характерная черта канцерогенных веществ, не принадлежащих к группе алкилирующих агентов,— это способность отдавать и присоединять электроны [61]. О присоединении электронов можно судить по изменениям ультрафиолетовых спектров канцерогенных соединений, снятых в растворах акридина в хлороформе. И потеря, и присоединение электронов были подтверждены с помощью полярографии. Аллисон и Нэш [61] высказывают предположение, что канцерогены застревают между двумя активными участками биологической системы, которую они ингибируют, действуя в качестве ловушки электронов. Так как переход электронов от молекулы к молекуле требует тесного контакта, то можно было предвидеть, что стерические эффекты могут ему помешать. И действительно, оказалось, что канцерогенная активность 20-метил-, этил-, изопропил- и *трет*-бутилхолантронов снижается по мере увеличения алкильного радикала. 5-Метилбензантрацен также обладает более сильным канцерогенным действием, чем бензантрацены, у которых в положении 5 введены алкильные группы с более длинными цепями. А очень крупные полициклические углеводороды совсем не имеют канцерогенных свойств [742]. Однако, каковы бы ни были детали, канцерогенные углеводороды и азобензолы, по-видимому, осуществляют свое действие, связываясь с клеточными белками таким образом, что при этом нарушается механизм генетического контроля [399].

Некоторые высокоактивные канцерогенные углеводороды, например 9, 10-диметил-1,2-бензантрацен, имеют не совсем плоские молекулы, хотя это и противоречит прежним представлениям об их строении [740].

Вещества, способные тормозить рост раковых клеток, почти всегда в определенных дозах могут обладать канцерогенным действием хотя бы на подопытных животных<sup>1</sup>. Однако это канцерогенное действие различных полициклических углеводородов ингибируется с помощью сравнительно безвредных химических аналогов [93]. О свойствах противораковых препаратов более подробно см. гл. 10, разд. 4 и 5 и гл. 6, разд. 3, в.

#### в. Электронные влияния на способность к образованию ковалентной связи

В гл. 7, разд. 2, а шла речь об электронодонорных эффектах метильной группы, имеющих мгновенный характер. Сейчас мы рассмотрим такие эффекты, которые протекают во времени (т. е. контролируются кинетически). Метильная группа благодаря своему электронодонорному характеру способствует электрофильному замещению, например облегчает взаимодействие соседних аминогрупп с альдегидами с образованием азометинов (шиффовы основания). Благодаря наличию в боковой цепи метильной группы соединение легко вступает в различные реакции. В частности, метильная группа ароматического углеводорода легко окисляется в карбоксильную, что полностью изменяет характер распределения вещества в организме [1292].

Метильные группы стабилизируют молекулу, если они замещают атомы водорода, которые в противном случае могли бы отщепиться вместе с соседними атомами. Например, дитиокарбаматы (7.7) теряют сероводород, если

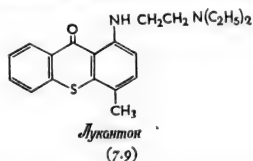
<sup>1</sup> Объяснение этого феномена на уровне лизосомной конденсации содержится в статье Филова В. А. (Вопросы онкологии, № 7, 93—100, 1970).— *Прим. ред.*

хотя бы один из заместителей представляет собой атом водорода. Таким образом из них образуются изотиоцианаты (7.8). Например фунгицид набам (2.26), весьма широко применяемый в сельском хозяйстве, расщепляется непосредственно на растениях с выделением изотиоцианата.

Если оба заместителя R в молекуле дитиокарбамата (7.7) представляют собой метильные группы, то молекула будет стабилизирована; вот почему другой сельскохозяйственный фунгицид — диметилдитиокарбамина кислота (2.29) — действует как таковой, а именно посредством хелатообразования (гл. 9, разд. 7, в).



Лукантон (1,2'-диэтиламиноэтиламино-4-метилтиоксантон (7.9), который принадлежит к препаратам-предшественникам, содержит S-метильную группу. Для превращения в активную форму требуется, чтобы эта  $\text{CH}_3$ -группа в организме млекопитающего была окислена в оксиметильную группу. Этот препарат был предложен для лечения шистосоматоза во время второй мировой войны под названием мирацил D [980]. Позднее было обнаружено,



что для биологической активности важное значение имеет присутствие метильной группы в положении 4 [583]. Окисленный продукт, известный под названием гикантон, в 10 раз активнее лукантона. Оксиметильная группа, возможно, придает этому лекарственному препарату алкилирующую способность (ср. с примером, приведенным в гл. 10, разд. 4).

### Введение

Четвертичные алифатические амины, такие, например, как ацетилхолин, должны находиться в полностью ионизованном состоянии при всех значениях pH. Это вытекает из их структуры: у аминов нет протона, который они могли бы потерять, а их атом азота способен образовывать не более четырех ковалентных связей. Однако большинство биологически активных веществ — это *слабые* кислоты или *слабые* основания, и поэтому степень их ионизации сильно зависит от pH. Кроме того, константы ионизации биологически активных соединений, а следовательно, и степень их ионизации при определенном pH можно изменять в широких пределах, варьируя их химическую структуру. Эти два способа изменения степени ионизации очень важны для исследователя, поскольку ионы и незаряженные молекулы весьма различны по своим свойствам. Так, незаряженные молекулы и ионы по-разному ведут себя в химических реакциях, по-разному проникают через мембраны и адсорбируются на различных веществах.

### 1. Природа ионизации

Известно много веществ, которые при растворении в воде не повышают ее электропроводности. Их называют неэлектролитами (в качестве примеров этого типа веществ можно назвать хлороформ и эфир). Неэлектролиты понижают температуру замерзания воды пропорционально их молярной концентрации. В отличие от этого кислоты, основания и соли повышают электропроводность воды, т. е. являются электролитами. К этому типу соединений относится большинство биологически активных веществ. Все электролиты понижают температуру замерзания воды в значительно большей степени, чем можно было бы ожидать, исходя из их молярной концентрации. В разбавленных растворах едкого натра, соляной кислоты и хлористого натрия это понижение оказалось вдвое больше ожидаемого, и именно это послужило для шведского химика Аррениуса в 1884—1887 гг. основанием для создания теории ионизации электролитов, которая была дополнена и развита на основе новых научных данных Дебаем и другими. Соляная кислота в растворе нацело диссоциирована на катионы водорода и анионы хлора ( $H^+$  и  $Cl^-$ ). Едкий натр — на катионы натрия и анионы гидроксидов ( $Na^+$  и  $OH^-$ ), хлористый натрий — на катионы натрия и анионы хлора ( $Na^+$  и  $Cl^-$ ). В случае сульфата натрия понижение оказалось в три раза большим, чем следовало ожидать, и это было объяснено тем, что вместо одной молекулы  $Na_2SO_4$  в растворе имеются три иона, т. е. два катиона натрия и один анион сульфата ( $SO_4^{2-}$ ).

*Соли.* Как правило, соли в растворах полностью ионизованы. Исключений из этого правила немного. Наиболее известные из них — это галоидные соединения ртути, кадмия и свинца. Вследствие полной ионизации солей их биологические свойства определяются свойствами ионов, из которых они состоят. Так, например, физиологическое действие хлористого кальция ни в чем не отличается от действия, свойственного ионам кальция и ионам хлора. Однако это оказывается неверным в тех случаях, когда соль

образована слабой кислотой или слабым основанием, ибо тогда вследствие гидролиза (см. ниже) высвобождается большее или меньшее количество незаряженных молекул, биологическое действие которых суммируется с эффектом, вызванным ионами. Мы увидим в дальнейшем, как можно предотвратить гидролиз, незначительно изменяя pH.

Биологи часто забывают о том, что физиологическое действие соли не может быть ни больше, ни меньше, чем действие суммы ее ионов. Например Хата [658] проверял на мышах токсичность 3,6-диамино-10-метилакридинийхлорида и соответственно иодида. Он установил, что иодид в два раза слабее хлорида (сравнивалось действие равных весовых количеств). Далее, сравнение активности этих веществ при экспериментальной стрептококковой инфекции у мышей также показало, что иодид вдвое менее активен. Оба аниона при тех высоких разведениях, в которых они были испытаны, биологически инертны; поэтому в данных условиях биологическая активность должна быть пропорциональна количеству катионов исследуемых соединений, которые в нейтральных растворах нацело ионизованы [28]. Молекулярные веса этих соединений равны соответственно 260 и 354, так что активность иодида должна составлять 74% активности хлорида. Результаты биологических исследований соответствуют приведенному расчету, если учитывать применявшиеся разведения. Эти эксперименты дают возможность только сравнить биологическое действие катиона диаминометилакридиния и его незаряженной молекулы.

Проверялись также антибактериальные свойства сульфатов, нитратов, гидрохлоридов и гидроидов акридина. Как и следовало ожидать, при этом не было обнаружено никакого эффекта, который можно было бы приписать аниону [244]. Однако в статье, помещенной в *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1944, утверждалось, что бактериостатическое действие гидрохлорида хинакрин (мепакрин, атебрин) (8.27) на гемолитические стрептококки в 32 раза сильнее действия соответствующего лактата. Эти данные были опубликованы без всяких комментариев, в которых они, безусловно, нуждаются. Из-за своего сравнительно высокого молекулярного веса (400) хинакрин может в небольшой степени образовывать ассоциаты<sup>1</sup> с соответствующими анионами, и, следовательно, здесь может проявиться так называемый «эффект активности». Иными словами, не все катионы хинакрин окажутся активными (доступными). Этот эффект активности различен для разных анионов, но значительным он оказывается только у анионов с высоким молекулярным весом. Однако разница в 32 раза в данном случае не может объясняться эффектом активности, тем более что на других микроорганизмах различие в действии этих двух солей оказалось совсем небольшим. Этот пример иллюстрирует значение того, насколько важно знать теорию ионизации. Ясно, что при испытании лактата имела место техническая погрешность; возможно, например, что он растворился неполностью.

**Кислоты и основания.** В отличие от солей, кислоты и основания обязательно должны быть полностью ионизованы в растворе. Сильные кислоты (например, соляная) и сильные основания (например, едкий натр) полностью ионизованы при всех значениях pH от 0 до 14, тогда как слабые кислоты и основания в этих пределах pH имеют различную степень ионизации. Даже совсем небольшие изменения pH в любую сторону от нейтральной точки (pH 7) могут сильно отразиться на ионизации таких лекарственных средств, как барбитураты, алкалоиды, а также местноанестезирующие и антигистаминные препараты. Ниже приводятся несколько примеров.

Соли, образованные слабой кислотой или слабым основанием, неустойчивы в водных растворах, так как они частично гидролизуются с образованием кислоты или основания, из которых были получены. Таким образом,

<sup>1</sup> Об ассоциации ионов см. [401].

соль (которая по определению нацело диссоциирована) может выделить кислоту или основание, низионизованное неполностью. Эта ситуация на самом деле проще, чем кажется сначала, так как степень ионизации в растворе зависит только от двух факторов — pH и  $pK_a$ . Последний из этих факторов (он будет охарактеризован ниже) является для любой кислоты или основания постоянной величиной. Поэтому при контролируемом pH степень ионизации определяется только природой добавленной кислоты (или соответственно основания) *независимо от того, были они предварительно нейтрализованы или нет*. Например, отношение концентрации ионов атропина к концентрации его молекул останется неизменным независимо от того, будет ли добавлен к буферному раствору (pH7) гидрохлорид атропина, атропинсульфат или атропин-основание. Если повысить pH раствора, то количество ионов атропина уменьшится, но новое отношение концентрации ионов к концентрации молекул также не будет зависеть от того, в какой форме был добавлен атропин. Во избежание путаницы, неизбежной при применении терминов «свободные» или «неионизованные» кислоты или основания, обычно для обозначения всех незаряженных форм употребляют термины «нейтральная молекула» (или «нейтральная частица»).

Бактериологи, статья которых о хинакрине упоминалась выше, опубликовали в 1944 г. сообщение о том, что бактерицидное действие 9-аминоакридина в 64 раза сильнее, чем действие его хлористоводородной соли (в опытах на пневмококках типа III, выращенных на бульоне с глюкозой). Авторы не указывают, была ли их среда забуферена. Если была, то в обоих случаях должен был получиться одинаковый результат и, следовательно, их методика была порочной. Если же среда не была буферной, то результаты опытов нельзя было сравнивать из-за разницы pH растворов сильного основания и его солей (а значительное увеличение антибактериальной активности акридинов при повышении pH известно уже давно) [247, 604].

*Константа ионизации ( $K_a$ ).* Существенной частью принадлежавшей Аррениусу теории ионизации явилось применение закона *действия масс* для объяснения состояния ионного равновесия. Так, например, уксусная кислота ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) — это слабая кислота, которая в воде ионизируется с образованием некоторого количества ионов водорода ( $\text{H}^+$ ) и ионов ацетата ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ). Отношение произведения концентраций этих ионов ( $[\text{H}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]$ ) к концентрации нейтральных молекул  $[\text{CH}_3\text{COOH}]$  всегда является постоянной величиной. Это отношение называется константой кислотности или просто константой ионизации:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} \quad (1)$$

Величина  $K_a$  для уксусной кислоты была определена экспериментально; она равняется  $1,75 \cdot 10^{-5}$  (при  $25^\circ$ ).

Иногда константу ионизации называют «константой диссоциации», но первое название точнее. Многие комплексы, например системы ферментов, «диссоциируют» на составляющие их компоненты, и возникающее при этом равновесие выражается константами диссоциации, также выведенными из закона действия масс. Однако такие константы обычно не являются константами ионизации.

Состояние ионизации слабых оснований также может быть охарактеризовано константой кислотности. Например, аммиак — это слабое основание, способное присоединять ион водорода с образованием иона аммония ( $\text{NH}_4^+$ ); но тогда этот последний можно рассматривать как слабую кислоту, низионизующуюся в воде на ион водорода и молекулу аммиака. Можно записать:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} \quad (2)$$

Экспериментально найденная  $K_a$  равна  $5,5 \cdot 10^{-10}$  (при  $25^\circ$ ).



Бренстед первый обратил внимание на формальное сходство уравнений 1 и 2 и в 1929 г. предложил ионизацию оснований выражать через константу кислотности. Это гораздо удобнее, так как при этом ионизация оснований и кислот описывается с использованием одной шкалы; прежде вычисляли константу основности аммиака  $K_b$  по следующему уравнению:

$$K_b = \frac{[\text{OH}^-][\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_4\text{OH}]} \quad (3)$$

Она оказалась равной  $1,8 \cdot 10^{-5}$  (при 25°). Уравнение (3) нереально, так как соединения, содержащие азот с пятью ковалентными связями, существовать не могут. Уравнения 1 и 2 показывают, что кислота отщепляет ионы водорода, а основание их присоединяет. Таким образом, и кислоту, и основание можно характеризовать количественно одной и той же величиной — средством к иону водорода, и это дает возможность применять константы кислотности как для кислот, так и для оснований.

**Определение  $pK_a$ .** Пользоваться константами ионизации неудобно, так как величины их очень малы. Гораздо удобнее иметь дело с их отрицательными логарифмами (обозначаемыми  $pK_a$ ). Так,  $pK_a$  уксусной кислоты составляет 4,76, а аммиака 9,26. В литературе прежних лет часто приводятся значения  $pK_b$  для оснований (например, для аммиака  $pK_b = 4,74$ ). Зная величину  $pK_b$ , можно получить  $pK_a$ ; для этого из отрицательного логарифма ионного произведения воды ( $K_w$ ) при данной температуре вычитают  $pK_b$ . Значения  $pK_w$  при 20° = 14,16; при 25° = 14,00; при 37° = 13,58.

Ясно, что значения  $pK_a$  позволяют легко сравнивать кислоты (или основания) по их силе. Чем сильнее кислота, тем  $pK_a$  ее ниже; чем сильнее основание, тем его  $pK_a$  выше. Значение pH, при котором кислота или основание ионизованы наполовину, равно их  $pK_a$ . Когда pH на одну единицу ниже  $pK_a$ , кислота ионизована на 9% (основание ионизовано на 91%). Если кислота ионизована на 91% (или основание — на 9%), то pH на одну единицу выше  $pK_a$ . Любая кислота или основание после частичной нейтрализации может служить эффективным буфером в пределах от одной единицы ниже до одной единицы выше его значения  $pK_a$ . Благодаря этому биологи имеют возможность широкого выбора буферов для своих экспериментов. Однако ассортимент веществ, применяемых в качестве буферов, необоснованно ограничен; вместо того чтобы употреблять катионы (например, N-этилморфолин и «Трис»<sup>1</sup>), обычно используют некоторые анионы (например, цитрат и фосфат), образующие неионизованные комплексы с незаменимыми микроэлементами. Фосфатный буфер, например, ингибирует действие изоцитратдегидрогеназы в сердце свиньи, связывая марганец [1926].

**Как находить значения  $pK_a$ .** Общеупотребительные значения  $pK_a$  имеются в обычных справочниках (например, [52]). Остальные легко найти в двух сборниках IUPAC (кислоты — в сборнике Кортюма, а основания — у Перрена). Новые данные публикуются в Chemical Abstracts под индексом «Ionisation, electrolytic». В табл. 23 приведены силы наиболее распространенных кислот и оснований; эту таблицу рекомендуется знать наизусть. Кислоты и основания равной силы в ней расположены на одной строке, друг против друга.

Для многих монокарбоновых кислот (и алифатических, и ароматических) характерны значения  $pK_a$  4—5 (ср. уксусная кислота).  $pK_a$  для фенола равен 10; это значение типично и для его гомологов (тимолов, крезолов и др.). Кислоты,  $pK_a$  которых выше 7, почти не изменяют цвета синей лакмусовой бумаги, а выше 10 — даже не имеют кислого вкуса. Величина  $pK_a$  11 типична для алифатических (например, этиламинов), а  $pK_a$  5 — для ароматических оснований (анилинов), которые гораздо слабее. Так как величины  $pK_a$  пред-

<sup>1</sup> Трис — это трис-оксиметиламинметан. — Прим. перев.

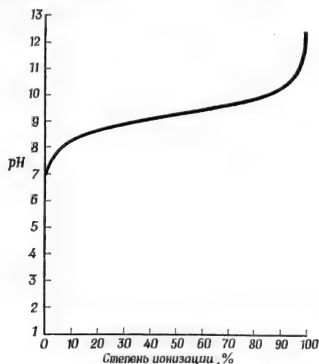
Таблица 23

## Сравнительная сила наиболее распространенных кислот и оснований

Кислота	$pK_a$	Основание	$pK_a$
Соляная кислота, серная кислота	$< 0$	Едкий натр	$> 14$
Щавелевая кислота, фосфорная кислота	2		12
	3	Этиламин	11
	4		10
Уксусная кислота	5	Аммиак	9
Угловая кислота	6	Хинин, стрихнин	8
	7		7
	8		6
Синильная кислота, борная кислота	9	Анилин, пиридин	5
Фенол	10		4
	11		3
	12		2
Глюкоза	13	<i>n</i> -Нитроанилин	1

ставляют собой десятичные логарифмы, то приведенные величины означают, что основность этиламина превышает основность анилина в 1 млн. раз (антилогарифм шести). Многие алкалоиды и другие биологически активные основания имеют значения  $pK_a$  около 8. Основания,  $pK_a$  которых ниже 7, почти не изменяют цвета красного лакмуса.

Введение в молекулу электронодонорных групп (например,  $-\text{CH}_3$ ) слегка увеличивает ее основность и понижает кислотность. Наличие электроноакцепторных групп (например,  $-\text{NO}_2$ ), наоборот, ослабляет основность



Фиг. 38. Типичная кривая потенциометрического титрования кислоты (борная кислота,  $pK_a$  9,21 при 20°).

и повышает кислотность. В приложении 3, помещенном в конце книги, сведены электронные характеристики различных заместителей, а сведения о механизмах их действия и о влиянии их положения в молекуле на ее кислот-

ные и основные свойства можно найти в учебниках. В настоящее время эти процессы настолько хорошо изучены, что можно синтезировать кислоту или основание любой требуемой силы [108, 323, 1121].

Подробные практические указания по лабораторным методам определения констант ионизации приведены у Альберта и Серджента [52].

**Расчет степени ионизации.** Степень ионизации любого основания в водном растворе можно вычислить при помощи следующего уравнения (если известны рН раствора и  $pK_a$  вещества):

$$\text{Степень ионизации (\%)} = \frac{100}{1 + \text{антилогарифм } \text{pH} - \text{p}K_a} \quad (\text{IV})$$

Из этого уравнения ясно, что степень ионизации зависит от рН, причем зависимость эта не является линейной, а выражается сигмоидальной кривой (фиг. 38). Анализ этой кривой показывает, что небольшое изменение рН может вызвать сильное изменение ионизации, особенно если значения рН раствора близки к величине  $pK_a$  исследуемого вещества. Это хорошо видно также из данных, приведенных в табл. 24. Например, если проводить опыт при рН 7 с нитрофенолом,  $pK_a$  которого также 7, то половина вещества будет находиться в ионизованном состоянии.

Таблица 24

Расчет степени ионизации по заданным  $pK_a$  и рН<sup>1)</sup>

$pK_a - \text{pH}$	Ионизация по анионному типу, %	Ионизация по катионному типу, %
-4	99,99	0,01
-3	99,94	0,10
-2	99,01	0,99
-1	90,91	9,09
0	50,00	50,00
1	9,09	90,91
2	0,99	99,01
3	0,10	99,94
4	0,01	99,99

<sup>1)</sup> В развернутом виде эта таблица приведена в приложении 2.

Если повысить рН до 8, то фенол будет ионизован почти полностью, а при понижении его до 6 почти весь фенол перейдет в неионизованное состояние.

Если рН раствора близок к  $pK_a$  данного агента, то небольшое изменение рН приводит к резкому изменению степени ионизации этого агента. Это показано в табл. 25, которую можно представить себе как центральную часть табл. 24, рассматриваемую через увеличительное стекло.

**Полиэлектролиты.** Полиэлектролиты — это вещества, в молекулах которых имеется много групп, способных к ионизации. Все группы полиэлектролита могут иметь одинаковые (например, полиакриловая кислота) или разные (например, белки) заряды. Кривые титрования полиэлектролитов имеют довольно неопределенную («размытую») форму. Полиины всегда окружены большим количеством противоионов. Этим они отличаются от монои дионов [1190].

**Цвиттерионы.** До сих пор ничего еще не говорилось о цвиттерионах, т. е. о ионных формах, имеющих одновременно как положительные, так и отрицательные заряды. Будет данное соединение находиться в форме цвиттериона или нет, зависит от рН среды; в присутствии щелочи цвиттерион может реагировать как анион а в присутствии кислоты — как катион.

Таблица 25

Расчет степени ионизации для случаев,  
когда  $pK_a$  близко к pH

$pK_a - pH$	Ионизация по анионному типу, %	Ионизация по катионному типу, %
-0,5	75,97	24,03
-0,4	71,53	28,47
-0,3	66,61	33,39
-0,2	61,32	38,68
-0,1	55,73	44,27
0	50,00	50,00
+0,1	44,27	55,73
+0,2	38,68	61,32
+0,3	33,39	66,61
+0,4	28,47	71,53
+0,5	24,03	75,97

Например, кислотная группа глицина имеет  $pK_a$  2,2, а основная —  $pK_a$  9,9. Из данных, приведенных в табл. 24, явствует, что при pH 3,2 ионизованным окажется 90% кислотных групп (и все основные группы), т. е. 90% вещества будет находиться в виде цвиттериона и 10% — в виде катиона. Такой же расчет можно сделать и для других значений pH; оказывается, глицин при pH 3,2—8,9 присутствует почти полностью в виде цвиттериона. Следовательно, если pH по крайней мере на одну единицу выше  $pK_a$  кислотной группы и на одну единицу ниже  $pK_a$  основной группы, то вещество будет находиться в форме цвиттериона на 90% или более. Если применить это правило к *л*-аминобензойной кислоте ( $pK_a$  кислотной группы 4,8; основной — 2,7), то легко заметить, что эта кислота в нейтральных и щелочных растворах находится в виде аниона. При pH 3,8 растворы *л*-аминобензойной кислоты содержат 90% нейтральных молекул, 9% цвиттерионов и 1% (или менее) катионов или анионов. Тесты, позволяющие различать цвиттерионы и амфотерные соединения, описаны Альбертом и Серджентом [52].

Как правило, цвиттерионы фармакологически инертны. Например, гистидин не обладает фармакологическим действием, в отличие от родственного ему гистамина, который в ионизованном виде представляет собой катион (фармакологические свойства катионов гистидина неизвестны, так как в этой ионной форме он существует только при pH ниже 2). Другой пример: винильная группа хинина может быть окислена в карбоксильную группу, и в результате хинин, способный образовывать только катионы, превращается в цвиттерион; при этом исчезает и его противомаларийное действие. Если же полученную кислоту (хитенин) этерифицировать, то вновь образуется катион, обладающий сильным противомаларийным действием [591]. Аналогичные примеры можно привести и для производных акридина (гл. 8, разд. 3, а).

Норадреналин (4.2) и его *N*-алкильные гомологи существуют главным образом в виде катионов при pH 6—8; однако из-за наличия в его молекулах до нескольких кислотных и основных групп возникает сложная смесь так называемых минорных ионных форм. Причина этого состоит в том, что значения  $pK_a$  и для аминогруппы, и для первой фенольной группы расположены в узком интервале значений — от 8,9 до 10,3 (ионизация второй феноль-

ной группы подавлена в согласии с принципом кулоновского взаимодействия). Используя методику, принятую для тирозина, Эдсолл [458] из двух кажущихся констант ионизации рассчитал 4 микроконстанты ионизации. Дело в том, что если константы двух противоположно заряженных групп отличаются друг от друга не более чем на две единицы  $pK_a$ , то у каждой группы будут две различные константы в зависимости от того, ионизована другая группа или нет. Это и есть микроскопические константы. Как было обнаружено, константы ионизации нордреналина и его N-метил-, этил-, изопропил-, n-бутил-, втор-бутил-, трет-бутил- и изобутилпроизводных так незначительно различаются между собой, что резкое различие в физиологических свойствах веществ этого ряда [906] (см. также гл. 4, разд. 6, в) никак нельзя объяснить только наличием минорных ионных форм у некоторых членов ряда [1334].

## 2. Различия в степени ионизации и избирательное действие

Студенты часто задают вопрос: «Имеет ли значение степень ионизации при оценке биологического действия? Ведь даже слабоионизованные вещества образуют хотя бы несколько ионов, и по мере их удаления нейтральные молекулы поставляют новые ионы, согласно закону действия масс [уравнение (1)]».

Это возражение разумно, однако нужно учитывать, что ионы не образуют с рецепторами ковалентных связей и поэтому могут легко отрываться. Для того чтобы ионы могли удерживаться на рецепторах, требуется их избыток в растворе. Например, кристаллический фиолетовый оказывает бактериостатическое действие на *E. coli* при разведении 1 : 10 000, но не 1 : 20 000, хотя оба раствора интенсивно окрашены в фиолетовый цвет. Фиолетовая окраска указывает на присутствие катионов, которые являются активной формой этого антибактериального агента (нейтральные молекулы бесцветны).

Уравнения (5) и (6) помогают объяснить описанное явление. Из уравнения (5) вытекает, что величина  $K_a$  (константа ионизации) определяет отношение числа катионов ( $BH^+$ ) к числу нейтральных молекул ( $B$ ) при любой заданной концентрации водородных ионов ( $H^+$ ). Точно так же уравнение (6) определяет величину  $K_s$ , т. е. константу устойчивости ионной пары ( $ABN$ ), образующейся путем присоединения катиона лекарственного препарата ( $BH^+$ ) к реакционноспособному анионному участку бактерии ( $A^-$ ). Этот комплекс образуется за счет ионного взаимодействия, обычно дополнительного водородной связью или силами Ван-дер-Ваальса.

$$K_a = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]} \quad (\text{константа ионизации}), \quad (5)$$

$$K_s = \frac{[ABN]}{[A^-][BH^+]} \quad (\text{константа стабильности}). \quad (6)$$

Обычно  $K_a$  и  $K_s$  — сравнимые величины; поэтому недостаток катионов в растворе будет пополняться не только за счет неионизованного лекарственного препарата ( $B$ ), но также за счет лекарственно-бактериального комплекса ( $ABN$ ). В этих условиях константа ионизации становится ограничивающим фактором, определяющим потенциальную возможность использования данного соединения в качестве лекарственного препарата: ионы должны не просто иметься в наличии, но находиться в избытке.

К кристаллическому фиолетовому многие бактерии гораздо более чувствительны, чем *E. coli*. Так, например, *Streptococcus pyogenes* ингибируется раствором в разбавлении 1 : 320 000 (при разведении 1 : 640 000 действия нет), а раствор в разбавлении 1 : 2 000 000 убивает *Staphylococcus aureus*.

Эти различия в чувствительности могут быть обусловлены различиями в поглощении препарата, а также различным распределением в местах потерь (гл. 2, разд. 3), однако не исключено, что они указывают и на различия в  $K_s$  у разных организмов. Имеется много доказательств в пользу того, что разные организмы и даже разные ткани одного организма имеют разные константы стабильности. Это создает основу для избирательного действия катионных лекарственных средств. Антигистаминные препараты подавляют действие гистамина во многих тканях млекопитающих, *но не в желудке*, в связи с чем можно предположить, что желудок имеет более высокую  $K_s$  для гистамина, чем остальные ткани.

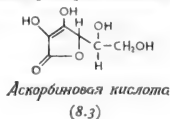
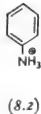
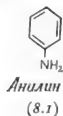
Другие типы избирательного действия зависят не от легкости, с которой адсорбируется данный ион (о чем только что шла речь), а от тех свойств, которыми ионы принципиально отличаются от молекул. Эти отличия будут рассмотрены ниже.

Таблица 26

Аутоокислация аскорбиновой кислоты [1509]

	pH	Концентрация дианиона, %	Концентрация моноаниона, %	Концентрация молекул, %	Константа скорости, мин <sup>-1</sup> ( $\times 10^3$ )
В отсутствие ионов металлов	9,21	0,5	99,5	—	22
	8,74	0,2	99,8	—	11
	7,61	0,01	99,99	—	0,7
	5,80	—	97,8	2,2	0,1
	4,70	—	79,4	20,6	0,03
В присутствии медного катализатора	9,31	0,6	99,4	—	101
	7,49	0,01	99,99	—	170
	6,12	—	99,0	1,0	134
	5,08	—	90,1	9,9	91
	3,87	—	36,0	64,0	26
	2,59	—	2,9	97,1	2

**Ковалентная реакционная способность.** Под ковалентной реакционной способностью здесь подразумевается образование и разрыв ковалентных связей. Не заряженная молекула анилина (8.1) нитруется в *орто*- и *пара*-положения, а его ион (8.2) — в основном в *мета*-положение. Меняя кислотность нитрующей смеси, можно контролировать соотношение изомеров. Для брехимиков более интересным примером является аскорбиновая кислота (8.3), которая легко окисляется на воздухе в виде дианиона, тогда как моноанион и незаряженная молекула (любая из этих форм может стать преобладающей при соответствующем изменении pH) совершенно устойчивы [1509]. Данные, приведенные в верхней части табл. 26, показывают: при уменьшении pH скорость окисления снижается пропорционально снижению концентрации дианиона, несмотря на то что концентрации двух других форм при этом возрастают. В присутствии ионов двухвалентной меди аутоокислация аскорбиновой кислоты идет гораздо быстрее; в этом случае механизм реакции другой, так как скорость реакции окисления пропорциональна не концен-



трации дианиона или нейтральной молекулы, а концентрации моноаниона (табл. 26, нижняя часть).

У многих веществ кислотность или основность групп настолько мала, что при pH, характерных для биологических систем, они почти не ионизованы. Все же ионы очень часто (хотя отнюдь не всегда) гораздо более реакционноспособны, чем незаряженные молекулы, из которых они образованы; подтверждением этого может служить широкое применение сильных кислот и оснований в препаративной органической химии [641]. Так, при гидролизе сахарозы катализатором являются даже разбавленные кислоты. На самом деле гидролизу подвергается катион «сахарония», постоянно присутствующий в небольших количествах в этих условиях. По мере гидролиза одних катионов тотчас же образуются новые катионы. Продукты гидролиза — глюкоза и фруктоза — имеют малое сродство друг к другу, и поэтому сахароза разрушается быстро. Однако существуют и противоположные примеры, когда вещество более реакционноспособно в виде незаряженной молекулы. Общеизвестно, что малоновая кислота декарбоксилируется в уксусную кислоту в водной среде при 85°. Изменяя pH, обнаружили, что незаряженная молекула декарбоксилируется быстро, моноанион реагирует в 10 раз медленнее, а дианион вовсе не декарбоксилируется.

Разрыв ковалентных связей, особенно с помощью ферментов, резко скачивается на действии избирательно токсичных агентов. При этом агент может превратиться в еще более активное вещество (так, например, хлоралгидрат превращается в трихлорэтиловый спирт) или же, напротив, в биологически инертный продукт. Поэтому от изменений  $pK_a$ , влияющих на степень ионизации, могут зависеть природа и количество веществ (родственных друг другу), которые в конечном счете соединяются с рецепторами.

*Адсорбция на поверхностях.* Существует два вида адсорбции — неспецифическая и специфическая. Неспецифическая адсорбция свойственна амфифильным веществам, т. е. веществам, в которых гидрофильная концевая группа соединена со сравнительно крупным гидрофобным остатком. Примером подобных соединений служит обыкновенное мыло. Напомним, что молекулы воды связаны друг с другом водородными связями и что те или иные вещества растворяются в воде только потому, что они разрывают часть этих связей и сами образуют собственные водородные связи с молекулами воды. Амфифильные молекулы, растворенные в воде, находятся в состоянии подвижного равновесия, так как их гидрофобная часть непрерывно вытесняется молекулами воды, стремящимися соединиться друг с другом. Если гидрофобная часть будет вытеснена из раствора, то гидрофильная концевая группа по необходимости последует за ней (и наоборот, чем прочнее связана эта концевая группа с молекулами воды, тем эффективнее противостоит амфифильная молекула вытеснению ее из воды). Это стремление воды вытеснить амфифильные вещества лежит в основе неспецифической адсорбции: такие вещества стремятся расположиться на любой доступной им поверхности, независимо от ее химической природы. Мыло, например, по этой причине собирается на поверхности раздела воздух — вода в сосуде, содержащем мыльный раствор, а также на поверхности раздела стекло — вода. Если в мыльный раствор погружать какие-нибудь предметы, то мыло адсорбируется на поверхности этих предметов почти независимо от их химической природы. Это типично для неспецифической адсорбции.

При неспецифической адсорбции незаряженные молекулы адсорбируются сильнее, чем ионы (например, олеиновая кислота адсорбируется сильнее, чем олеат натрия). Это происходит потому, что олеат-ион гидратирован сильнее, чем соответствующая незаряженная молекула, вследствие чего последняя легче вытесняется из воды.

Специфическая адсорбция, напротив, чаще встречается у гидрофильных веществ, которые стремятся выйти из воды на поверхность, имеющую хими-

чески комплементарный характер. Простейшим примером комплементарного взаимодействия служит притяжение аниона к положительно заряженному участку поверхности, а катиона — к отрицательно заряженному. В подобных случаях ион, конечно, будет адсорбироваться значительно сильнее, чем соответствующая незаряженная молекула. Специфическая ионная адсорбция остроумно используется в процессе флотации минералов [1395]. Некоторые примеры этого явления для избирательно токсичных агентов, например для аминокридинов, будут приведены ниже в этой главе. Еще более интересным примером служат витамины группы В, которые накапливаются на комплементарных поверхностях (в ферментных системах) с поразительной быстротой и эффективностью, несмотря на то что хорошо растворяются в воде и содержатся в пище в ничтожных количествах.

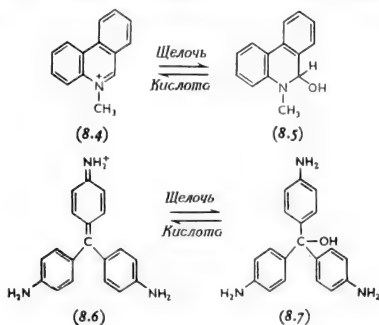
**Проникновение через мембраны.** Биологи единодушно считают, что каждая клетка окружена полупроницаемой мембраной, часто толщиной всего в 4 молекулы. Такая мембрана (обычно липопротеидной природы) имеет высокий заряд, поэтому ионам трудно проникнуть через нее. Трудности, встречающиеся на пути прохождения ионов через мембрану, следующие: а) сравнительно большая величина ионов вследствие их гидратации и б) заряд ионов, который либо *совпадает* по знаку с зарядом той части белковой поверхности, к которой ион приближается, в результате чего происходит отталкивание, либо *противоположен* по знаку, что приводит к фиксации иона на мембране в результате адсорбции. Незаряженные молекулы, если только они имеют не более трех гидрофильных групп и молекулярный вес их не превышает 150, легко проникают через мембраны (гл. 2, разд. 2; хороший пример приведен на фиг. 46). Рассматривая различие между молекулами и ионами, можно напомнить о том, что нейтроны, не обладающие электрическим зарядом, легко проникают в атомы, тогда как заряженные частицы — электроны и протоны — проникают в атом с большим трудом. Однако неверно было бы считать, что никакие ионы никогда не проходят через природные мембраны. Во-первых, для биологически важных ионов, по-видимому, существуют особые механизмы проникновения (так, известно, что кишечник человека легко пропускает ионы натрия и хлора, но сравнительно непроницаем для ионов магния и сульфата). Во-вторых, ионы, не обладающие способностью проникать через мембрану, могут приобрести эту способность вместе с липофильной группой; хлор-ион и другие липофильные группы, присутствующие в молекулах противомаларийных препаратов хинарина (мефакрин, атетрин) и хлорохина, способствуют их проникновению в эритроциты.

Следует учитывать и другой аспект влияния ионизации на биологическое действие. Эффективность лекарственного препарата, очевидно, зависит не только от собственной способности соединяться с каким-нибудь жизненно важным веществом той или иной ткани, но и от возможности его попадания в эту ткань. Если значение  $pK_a$  данного агента лежит в пределах от 6 до 8, то при pH 7, обычном для физиологических сред, создается равновесие между молекулами с одной стороны и по крайней мере 10% самой минорной ионной формы (табл. 24). Такой агент может войти в соприкосновение с мембраной, через которую смогут проникнуть только незаряженные молекулы. Но эти молекулы, пройдя через мембрану, попадают с большой вероятностью в водную среду с тем же значением pH, где они будут вновь образовывать ионы, и так продолжается до тех пор, пока по обе стороны мембраны для данного агента не установится одинаковая степень ионизации. Многие агенты имеют значения  $pK_a$  между 6 и 8; агенты с  $pK_a$ , сильно отличающимися от этих величин, распределяются иначе и имеют иной тип действия.

**Псевдосоединения.** Время, необходимое для создания ионного равновесия в растворе, чрезвычайно мало (например,  $10^{-7}$  сек), и поэтому можно считать, что ионные реакции протекают мгновенно. Однако существуют немногочисленные виды катионов, которые медленно соединяются *ковалент-*



ной связью с гидроксильными ионами, образуя непонижаемые вещества, известные под названием *псевдооснований*. При действии кислоты на псевдооснования из них может быть снова выделен исходный катион. Хотя эта реакция и подчиняется закону действия масс, для установления равновесия может потребоваться самое разное время, от одной минуты до недели. Наиболее известные псевдооснования — это гетероциклические четвертичные соединения и трифенилметановые красители. Методы расчета констант ионизационного равновесия и констант скорости установления этого равновесия предложены Гоулдейром и Филлипсом [587], а также Сиженом [316].



Образование псевдооснований может способствовать проникновению через мембраны; поэтому мы объясним химизм этого процесса. Формула (8.4) изображает катион N-метилфенантридиния, образующийся при ионизации. N-метилфенантридинхлорида. Это вещество может служить представителем всех четвертичных аммониевых оснований, у которых атом азота в гетероцикле имеет двойную связь (катионы соответствующих *третичных* аминов не образуют псевдооснований).

Азот не может иметь более четырех ковалентных связей, и, таким образом, в соединении (8.4) он обладает максимальной валентностью. Поскольку метильная группа не так подвижна, как ион водорода, то нейтральная молекула, соответствующая иону (8.4), существовать не может. Поэтому можно было бы предположить, что это соединение останется в ионизованном состоянии при любом pH. Однако этот ион медленно реагирует с ионом гидроксид-иона (реакция обратима), в результате чего возникает ковалентная связь и образуется нейтральная молекула (8.5) [954]. Этот вторичный спирт (8.5) называют псевдооснованием соединения (8.4). Такие псевдооснования обладают гораздо большей растворимостью в липидах, чем катионы, из которых они образуются, и вполне возможно, что эти ионы проникают в клетки именно в форме псевдооснований. Трианоцидное действие четвертичных гетероциклических соединений вполне объяснимо с учетом равновесия (8.4)  $\rightleftharpoons$  (8.5) и времени, потребного для превращения половины присутствующих катионов в псевдооснования ( $t_{0,5}$ ).

Формула (8.6) изображает катион парафуксина, типичного трифенилметанового красителя, который медленно реагирует с ионами гидроксид-иона, переходя в псевдооснование (8.7). Псевдооснования обоих типов (8.5) и (8.7) быстро реагируют со спиртами, образуя бесцветные эфиры. Это обстоятельство часто осложняет колориметрическое определение красителя, поглощенного биологическими объектами.

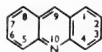
### 3. Вещества, обладающие большей биологической активностью в ионизованном состоянии

Тот факт, что многим органическим катионам присуща антибактериальная активность, был выяснен только во второй четверти нашего столетия. Ранее же было известно, что алифатические амины (существующие при pH 7 главным образом в виде катионов) обладают бактерицидной активностью, тогда как ароматические амины (которые при pH 7 большей частью существуют в виде незаряженных молекул) бактерицидного действия не оказывают. Однако в то время никто не подозревал, что антисептическое действие связано с наличием органических катионов; считалось, что антибактериальная активность зависит от «наличия гидроксильных ионов, высвобождаемых при ионизации гидроокисей алкиламмония, которые образуются при взаимодействии аминов с водой» [4020]. Иными словами, бактерицидное действие объяснялось щелочностью антисептических растворов. Однако, если бы эти амины были испытаны в форме солей или в нейтральном буферном растворе, то они оказывали бы такое же бактерицидное действие. Лишь в 1924 г. Стирн и Стирн [1363] высказали предположение, что антибактериальная активность трифенилметановых красителей объясняется взаимодействием катиона красителя с определенными анионными группами бактерий, в результате чего образуются слабо диссоциированные комплексы того типа, о котором мы уже упоминали в разд. 2 настоящей главы (см. уравнение (6)). Хотя эти исследователи не знали констант ионизации своих красителей<sup>1</sup>, они предсказали, что соли многих сильных оснований могут обладать антибактериальным действием, так как они способны образовывать достаточное количество катионов при физиологических значениях pH. Они показали также, что при повышении pH среды антибактериальное действие усиливается за счет повышения степени (анионной) ионизации рецепторов бактерий и что увеличение щелочности среды не следует доводить до такой степени, чтобы началось подавление ионизации самого антисептика.

Первое строгое доказательство взаимосвязи между ионизацией и биологическим действием было получено Альбертом [48, 50] через 17 лет после работы Стирнов. Альберт показал, что у соединений акридинового ряда существует количественная зависимость между антибактериальным действием и степенью ионизации по катионному типу. Эта зависимость вскоре была обнаружена и для других циклических соединений.

#### а. Аминоакридины, обладающие антибактериальным действием

Плоская молекула акридина (8.8) обладает слабыми основными свойствами. Для него возможны пять различных моноаминопроизводных, из которых два (3- и 9-аминоакридины) являются сильными основаниями вследствие эффекта резонанса [36], тогда как остальные три представляют собой основания гораздо более слабые. Аминоакридины были в 1913 г. предложены Броунингом в качестве антибактериальных средств, применяемых при лечении ран.



Акридин  
(нумерация по системе IUPAC)  
(8.8)

Одно из них, профлавин (3,6-диаминоакридин) (1.5), как было установлено впоследствии, действует как избирательно токсичный агент в отноше-

<sup>1</sup> Ионизация в то время не измерялась из-за технических трудностей при работе с псевдооснованиями. Эти трудности впоследствии удалось преодолеть [587].

ний многих грамположительных и грамотрицательных организмов и практически не оказывает вредного действия на организм человека [245, 248, 1485]. Аминоакридины с четвертичным атомом азота в ядре, например акрифлавин, более токсичны для млекопитающих, чем акридины без четвертичного атома азота, например профлавин. Псевдооснования образуются только из кватернизированных акридинов; поэтому в акридиновом ряду легко удалось избежать трудностей, которые встречаются при работе с трифенилметановыми красителями.

Предварительные эксперименты, проведенные в 1939 г., заставили меня и моих коллег прийти к выводу, что антибактериальная активность акридинов возрастает при повышении степени их катионной ионизации. Эти результаты были подтверждены при испытаниях 101 производного акридина на 22 видах бактерий [37, 50]. В табл. 27 приведена часть наиболее характерных результатов (более подробно этот вопрос освещен в приложении 1).

Таблица 27

**Зависимость бактериостатического действия некоторых производных акридина от ионизации (данные для других производных акридина и других видов бактерий приведены в приложении 1) [50]**

Производное акридина	Минимальная бактериостатическая концентрация для <i>Streptococcus pyogenes</i> после 48-часовой инкубации при 37° (среда: бульон с 10% сыворотки; pH 7,3)	Степень ионизации по катионному типу (pH 7,3; 37°), %
9-Аминоакридин	1 : 160 000	99
3-Аминоакридин	1 : 80 000	72
2-Аминоакридин	1 : 10 000	2
1-Аминоакридин	1 : 10 000	2
4-Аминоакридин	1 : 5 000	< 1
3,9-Диаминоакридин	1 : 160 000	100
3,6-Диаминоакридин	1 : 160 000	99
4,9-Диаминоакридин	1 : 80 000	98
3,7-Диаминоакридин	1 : 160 000	76
2,7-Диаминоакридин	1 : 20 000	4
4,5-Диаминоакридин	1 : < 5 000	< 1
9-Амино-4-метилакридин	1 : 320 000	100
9-Амино-1-метилакридин	1 : 320 000	100
9-Амино-3-метилакридин	1 : 160 000	100
9-Амино-2-метилакридин	1 : 160 000	100
2-Амино-9-метилакридин	1 : 20 000	3
1-Амино-4-метилакридин	1 : 20 000	1
4-Амино-5-метилакридин	1 : < 5 000	< 1
9-Амино-3-хлоракридин	1 : 160 000	98
9-Амино-2-хлоракридин	1 : 160 000	94
9-Амино-1-хлоракридин	1 : 160 000	86
9-Амино-4-хлоракридин	1 : 80 000	83
3-Амино-6-хлоракридин	1 : 40 000	24
3-Амино-7-хлоракридин	1 : 40 000	20
3-Амино-9-хлоракридин	1 : < 5 000	11
2-Амино-6-хлоракридин	1 : < 5 000	1

Из пяти возможных моноаминоакридинов два сильно ионизованы при pH 7, остальные же ионизованы слабо. Из данных, приведенных в табл. 27, явствует, что именно эти два сильно ионизованных изомера отличаются высокой антибактериальной активностью, тогда как три слабо ионизованных изомера активны лишь в незначительной степени.

Такая же картина наблюдается и для остальных исследованных соединений (табл. 27) (ср. активность сильно и слабо ионизованных диамино-

акридинов, или же активность сильно и слабо ионизованных метиламинов и хлораминоакридинов.) Во всех случаях ионизация сопровождается резким повышением активности, как правило, в 8—16 раз. Ясно, что в этом ряду изменения структуры имеют сравнительно небольшое значение для активности, если только они не влияют на ионизацию.

Таким образом, было показано, что ионизация служит важнейшим фактором, регулирующим антибактериальное действие акридинов, но эта ионизация должна быть *катионной* по своему характеру. Вводя кислотные группы в ядра сильно основного акридина, легко получить соединение, имеющее характер цвиттериона и уже не являющееся катионом. Такова, например, 9-аминоакридин-2-карбоновая кислота (табл. 28). Сама она уже не обладает антибактериальной активностью, но вновь обретает ее после этерификации, поскольку в результате она переходит в катионное состояние. Вводя кислотные группы в ядро слабо основного производного акридина, можно получить соединения анионного характера. Такова акридин-9-карбоновая кислота (табл. 28). Эта кислота, так же как и ее эфир и сам акридин (ни одно из этих веществ не является катионным), не проявляет сколько-нибудь заметной антибактериальной активности.

Таблица 28

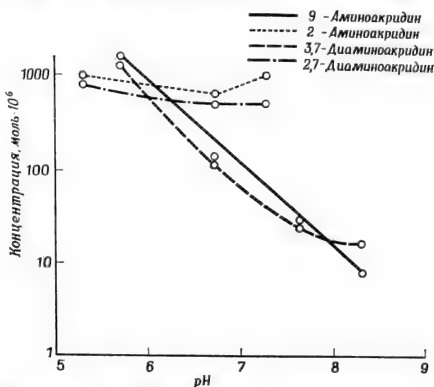
**Зависимость бактериостатического действия производных акридина  
от степени катионной ионизации**

Соединение	Минимальная бактериостатическая концентрация для <i>Styphosoma pyogenes</i> после 48-часовой инкубации при 37° (среда: бульон с 10% сыворотки; pH 7,3)	Степень ионизации (pH 7,3; 37°), %			
		катион	анион	цвиттерион	нейтральная молекула
9-Аминоакридин	1: 160 000	99	0	0	0
9-Аминоакридин-2-карбоновая кислота	1: < 5 000	0	0,2	99,8	0
Метиловый эфир 9-аминоакридин-2-карбоновой кислоты	1: 160 000	89	0	0	11
Акридин	1: 5 000	0,3	0	0	99,7
Акридин-9-карбоновая кислота	1: < 5 000	0	99,3	0,7	0
Метиловый эфир акридин-9-карбоновой кислоты	1: < 5 000	0	0	0	100

Механизм действия акридинов был изучен более подробно на организме, растущем как в кислотной, так и щелочной среде (*E. coli*). На фиг. 39 показана зависимость минимальных бактериостатических концентраций (отложенных в логарифмическом масштабе) четырех разных акридинов в диапазоне значений pH от 5,5 до 8,5. Лишь один из этих акридинов оказался достаточно сильным основанием для того, чтобы претерпевать ионизацию при указанных значениях pH. При таком способе построения графиков зависимости не удастся выявить никакой определенной закономерности. Однако если по оси ординат отложить концентрацию *катионов* (а не общую концентрацию вещества), то получаются параллельные прямые, что дает возможность сделать ряд интересных заключений (фиг. 40).

Во-первых, очевидно, что наиболее важным фактором, определяющим бактериостатическое действие при любом pH, является количество акридина, находящегося в виде катиона (что зависит как от pH среды, так и от  $pK_a$  акридина, см. табл. 24), а не общее количество акридина (катио-

ны + нейтральные молекулы). Во-вторых, наклон прямой показывает, что между катионами акридина и ионами водорода существует прямая конкуренция. Простейшее объяснение механизма действия катионов акридина заключается в том, что они конкурируют с ионами водорода за жизненно



Фиг. 39. Конкуренция между ионами водорода и производными акридина (на *E. coli*).

На оси ординат отложена минимальная бактериостатическая концентрация препарата в целом (катионы + молекулы).

важную анионную группу бактерии и что эта группа блокируется при соединении с катионом акридина, тем самым утрачивая способность участвовать в обмене веществ. О локализации этой группы речь будет идти дальше.

Таблица 29

Выделение водородных ионов бактериями *Bacillus bellus*, вызванное адсорбцией катионов кристаллического фиолетового<sup>1)</sup>

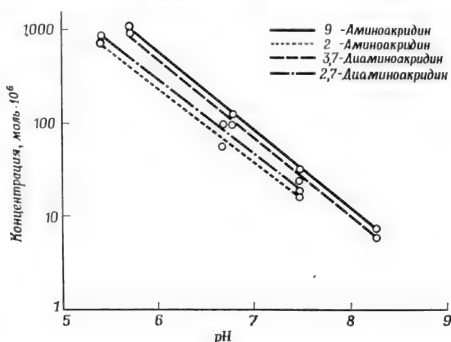
рН бактериальной суспензии (1)	рН раствора кристаллического фиолетового (2)	рН смеси (1) и (2)	Снижение рН, вызванное адсорбцией
8,5	8,5	6,6	1,9
6,5	6,3	4,8	1,7
5,5	5,5	3,8	1,7
5,0	5,1	3,5	1,6
4,1	4,2	3,0	1,1

<sup>1)</sup> Измерение рН производилось с помощью стеклянного электрода. Кристаллический фиолетовый — это N, N', N''-гексаметилпроизводное парафуксина (8.6).

Анализ данных, приведенных в табл. 29, показывает, что катионы с таким же молекулярным весом, что и те, которые обсуждаются здесь, способны высвободить водородные ионы из бактерий.

Графики, приведенные на фиг. 40, свидетельствуют также о том, что количество аминоакридина, необходимое для обработки раны, можно уменьшить, если предупредить развитие в ране кислой реакции. Очень интерес-

ные исследования в этом направлении были проведены во время второй мировой войны в австралийской армии. В результате стала ясна целесообразность промывания ран бикарбонатом натрия перед обработкой их гидрохлоридом 9-аминоакридина<sup>1</sup>. Такое промывание является весьма эффективным средством профилактики и лечения септической инфекции ран. Для этой цели можно использовать также сульфаниламидные препараты и пенициллин, но лучше избегать их употребления, так как при этом довольно часто наблюдается привыкание или же сенсibilизация, что создает



Фиг. 40. Конкуренция между ионами водорода и катионами производных акридина (на *E. coli*).

На ось ординат отложена минимальная бактериостатическая концентрация препарата, находящегося только в форме катионов.

неблагоприятные условия для последующей парентеральной терапии. На стр. 291 приводится сравнение клинического действия аминоакридинов и оксихинолинов.

Два обстоятельства заставляют прийти к выводу, что акридиновые антибактериальные агенты действуют на бактериальную клетку снаружи: во-первых, эти агенты в полностью ионизованном состоянии по меньшей мере столь же активны, как и ионизованные частично (см. разд. 2 настоящей главы); во-вторых, введение алифатических боковых цепей, которое должно способствовать проникновению через клеточные мембраны, в действительности сопровождается снижением антибактериальной активности [50]. Известно, что в бактериальных клетках многие жизненно важные ферменты располагаются на плазматической мембране; здесь найдена также рибонуклеиновая кислота (см. гл. 1, разд. 3.6, а также стр. 233).

Не возникает никаких сомнений в том, что акридины способны проникать в некоторые бактериальные клетки, так, эти соединения, как сообщалось, вызывали мутации у некоторых штаммов *E. coli* и *B. subtilis*. С другой стороны, у большинства штаммов этих и других видов бактерий, которые крайне чувствительны к аминоакридинам, они не вызывают мутаций. Ясно, что мутагенез не может послужить ключом к вопросу о месте действия акридинов. С помощью флуоресцентной микроскопии удалось обнаружить, что в живых клетках млекопитающих, практически не поврежда-

<sup>1</sup> В результате лабораторных испытаний, суммированных в табл. 27 и в приложении 1, и после успешного клинического применения для обработки тяжелых ран во время войны [1151; 1442] этот препарат вошел в британскую фармакопею под названием амниакрингидрохлорид.

емых аминокридинами [959, 1243, 1247, 1248, 1297], эти соединения концентрируются в ядре [615]. Это справедливо для тканей легких, сердца, печени, костного мозга, селезенки, языка, почек и тонкого кишечника кроликов, крыс и мышей.

Если место воздействия аминокридина на бактерию действительно находится снаружи, то, надо полагать, речь может идти исключительно о плазматической мембране, так как стенка клетки неживая и на ней не отмечаются следов механических повреждений. Однако, по-видимому, белок обычно в этом механизме участия не принимает, поскольку в опытах *in vitro* антибактериальное действие не снижалось в присутствии сывороточных белков [245]. В настоящее время полагают, что действие аминокридинов на бактерии и простейших опосредуется через их действие на нуклеиновые кислоты. Этот взгляд появился после того, как было показано, что профлавин, этакридин и акрифлавин в присутствии нуклеиновых кислот не подавляют рост *E. coli* и *Streptococcus pyogenes* [945]. В то время многие предполагали, что нуклеиновая кислота инактивирует акридин, однако, согласно современным представлениям, все обстоит как раз наоборот, т. е. акридин инактивирует нуклеиновую кислоту, содержащуюся в живых клетках, и что добавление избытка нуклеиновой кислоты ослабляет его действие (как это и было показано в опытах Мак-Ильвейна). Это новое представление возникло, когда было обнаружено, что для того, чтобы обладать антибактериальным действием, молекула должна в какой-то своей части, пусть минимальной, быть плоской; подкреплением ему послужило открытие Лерманом [898] интеркаляции. Оба эти принципа будут объяснены в следующем разделе (3,6).

В плазматических мембранах клеток млекопитающих РНК отсутствует; в то же время даже тщательно очищенные препараты плазматических мембран бактерий содержат РНК [730, 1597]. Более того, один конец единственной бактериальной хромосомы (молекула ДНК) прикреплен к этой мембране [1250]. Возможно, что либо ДНК, либо РНК как раз и служит местом воздействия антибактериальных аминокридинов. Присутствие РНК может означать также наличие фермента РНК-полимеразы, который ее синтезирует. Известно, что даже разбавленные до 30 мкМ растворы профлавина ингибируют этот фермент (а также ДНК-полимеразу). Предполагают, что в данном случае происходит взаимодействие акридина с той ДНК, которую фермент использует в качестве «затравки»; в результате наблюдается эффект ингибирования фермента. Не исключено также, что антибактериальное действие акридинов обусловлено ингибированием каких-то других ферментов; впрочем, ингибирование, вызываемое акридинами, весьма незначительно и имеет место при высоких концентрациях препарата, тогда как синтез и функционирование нуклеиновых кислот нарушаются аминокридинами в гораздо более низких концентрациях (см. гл. 22 в книге «Акридины» Альберта [28]).

Характер зависимости антибактериального действия катионов акридинового ряда (в опытах на *E. coli*) от величины pH (фиг. 40) может дать нам некоторые сведения о рецепторе акридина. Наклон прямых, приведенных на фиг. 40, свидетельствует о том, что рецептор является слабой кислотой, ионизация которой с повышением pH растет. Этот эффект не ослабляется и при pH 8,3 (предел выносливости организма по отношению к щелочам). Поскольку прямая должна стать более пологой, когда такая кислота достигает своего  $pK_a$ , то ее  $pK_a$  должно равняться 9 или более. Рецепторы, имеющие  $pK_a$ , соответствующее такому значению, — это гуанин, тимин и урацил (в нуклеиновых кислотах) [785], а также тирозин и SH-группа цистеина (в белках). Однако участие цистеина маловероятно, поскольку было показано, что тиогликолевая кислота (40 экв) не влияет на антибактериальную активность 9-аминокридина (личное сообщение проф. С. Руббо).

Однако анализ кривых, приведенных на фиг. 40, подсказывает еще одну привлекательную гипотезу: суть ее состоит в том, что катионы акридина конкурируют со слабым основанием ( $pK_a$  ниже 4,5) за сильную кислотную группу, которая остается ионизованной в пределах pH от 4,5 до 9,5 (по крайней мере). При этом увеличение кислотности должно сопровождаться повышением степени ионизации слабого основания, которое становится в результате более сильным конкурентом. Подходящим примером таких взаимоотношений служит конкуренция между катионами аденина ( $pK_a$  4,2) и 9-аминоакридина ( $pK_a$  9,6) за фосфатные группы РНК ( $pK_a$  1). Другая, менее вероятная возможность заключается в том, что при повышении pH медленно подавляется ионизация свободных аминогрупп белка и освобождаются карбоксиланионы, способные соединяться с катионами акридина.

Были сделаны остроумные попытки связать антибактериальное действие аминоакридинов с их окислительно-восстановительными потенциалами [219] или же со стабильностью свободных радикалов, образующихся в процессе восстановления [809]. Для веществ с сильным антибактериальным действием (3-амино-, 9-амино- и 3,6-диаминоакридинов)  $E'_0$  на первой стадии восстановления при pH 7,3 лежит между  $-0,47$  и  $-0,92$  в, тогда как соответствующие значения  $E'_0$  для соединений со слабым антибактериальным действием (1-, 2- и 4-аминоакридины) лежат между  $-0,31$  и  $-0,39$  в<sup>1</sup>. Таким образом, согласно этой гипотезе, небольшое различие в потенциалах (от  $-0,47$  до  $-0,39$  в) должно определить, обладает акридин антибактериальным действием или нет. Однако, как ясно видно при анализе кривых, приведенных на фиг. 40, это не соответствует истине. Те акридины (например, 2-аминоакридин), которые обладают слабым антибактериальным действием при pH 7,3 (при таком pH они ионизованы слабо), становятся такими же активными, как и акридины, обладающие при pH 7,3 сильным антибактериальным действием, если снизить pH до такого значения (скажем, 5,4), при котором оба акридина сильно ионизованы. Поскольку снижение pH не уменьшает разности окислительно-восстановительных потенциалов 2- и 3-аминоакридина, окислительно-восстановительные потенциалы не влияют на антибактериальную активность соединений акридинового ряда. Гипотеза свободных радикалов также должна быть отвергнута, поскольку свободные радикалы, о которых идет речь, являются продуктами первой стадии восстановления всех этих акридинов.

Кэй [809] впервые указал на то, что восстановительные потенциалы всех акридинов слишком низки и потому различия между величинами потенциалов не могут иметь значения для биологической активности этих веществ. Вещества, у которых потенциалы выше, могут участвовать в транспорте электронов, и этим может обуславливаться их антибактериальная активность, отличная по механизму от той, что описана для акридинов. Так, метиленовый синий, имеющий восстановительный потенциал  $+0,01$  в, обладает высокой антибактериальной активностью в отношении некоторых патогенных бактерий, например *Aerobacter aerogenes* [685]. В то же время вещества типа 2-антрилгуанидина (табл. 30), совершенно неспособные к восстановлению, обладают антибактериальным действием, типичным для акридинов<sup>2</sup>.

Здесь следует кратко упомянуть о противогрибковом действии акридинов (данные об их действии на простейших и на вирусы будут приведены в разд. 3, г и д настоящей главы). Подобно большинству катионных веществ аминоакридины почти не действуют на грибы, в том числе на дрожжи; однако некоторые из них обладают сильным мутагенным действием на дрожжи (они взаимодействуют с ДНК дрожжей). Наиболее активным мутагеном

<sup>1</sup> Приведены значения потенциалов по отношению к нормальному водородному электроду.  $E'_0$  охарактеризовано в гл. 9, разд. 4; указанные в тексте значения  $E'_0$  определены при pH 7,3.

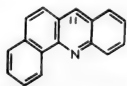
<sup>2</sup> Антрацены не восстанавливаются даже при  $-2$  в [160].



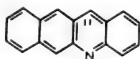
из них служит эуфлавин (3,6-диамино-10-метилакридинийхлорид) [481]. Те два аминоакридина, которые оказались наименее токсичными для тканей человека и наиболее полезными в хирургии (9-аминоакридин и 3,6-диаминоакридин), не являются мутагенами для дрожжей.

*6. Катионные антибактериальные средства, действующие по типу акридинов*

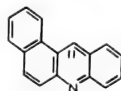
Выше была рассмотрена зависимость между катионной ионизацией и антибактериальной активностью производных акридина. Такая зависимость существует также для соединений по крайней мере семи других типов: для трех типов бензоакридинов [например, (8.9), (8.10) и (8.11)] (всего исследовано 16 представителей); для фенантридинов (8.12) (исследовано 6 представителей) и для трех типов бензохинолинов [например, (8.13); (8.14) и (8.15)] (исследовано 21 соединение) [47]. Некоторые примеры приведены в верхней части табл. 30.



Бензо [h] акридин  
(8.9)



Бензо [i] акридин  
(8.10)



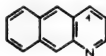
Бензо [j] акридин  
(8.11)



Фенантридин (нумерация по системе IUPAC)  
(8.12)



Бензо [f] хинолин  
(8.13)



Бензо [g] хинолин  
(8.14)

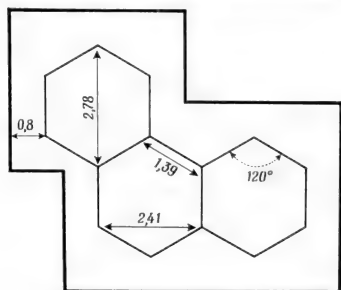


Бензо [h] хинолин  
(8.15)

Если вместо перегруппировки колец в молекуле акридина удалить одно или два бензольных кольца, то у полученных таким образом соединений полностью исчезнут антибактериальные свойства, даже несмотря на то что молекулы будут нацело ионизованы. Это легко увидеть, взглянув на табл. 30 [ср. 9-аминоакридин (8.16) с аналогичными по строению 4-аминохинолином (8.17) и 4-аминопиридином (8.18)]; на приведенных далее формулах в скобках указаны минимальные бактериостатические концентрации. Как оказалось, отсутствие антибактериальных свойств у последних двух веществ связано с недостаточной величиной плоской поверхности в их молекулах [47]. Если очертить контуры их колец (как это показано на фиг. 41), то площадь, полученная для хинолина, составит  $28 \text{ \AA}^2$ , а для пиридина  $17 \text{ \AA}^2$ , тогда как для акридина эта площадь равна  $38 \text{ \AA}^2$ .

Все гетероциклические ядра, о которых до сих пор шла речь, совершенно плоские, поскольку они представляют собой полностью сопряженные системы (т. е. в молекуле каждая вторая связь — двойная). Если же одно

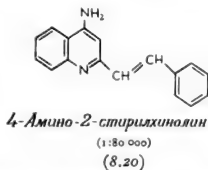
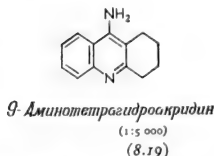
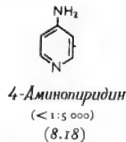
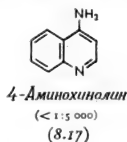
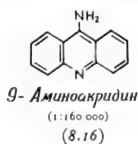
из бензольных колец 9-аминоакридина (8.16) гидрировать, то в молекулах образовавшегося 9-аминотетрагидроакридина (8.19) останется только  $28 \text{ \AA}^2$  плоской поверхности, так как гидрированные кольца трехмерны. Это уменьшение площади плоской поверхности сопровождается почти полной утратой антибактериальной активности. Поэтому представлялось возможным



Фиг. 41. Минимальный прямоугольный контур, очерченный таким образом, что он находится на вандерваальсовом расстоянии ( $0,8 \text{ \AA}$ ) от всех атомов азота и углерода.

создание высокоактивных антибактериальных производных хинолина и пиридина посредством введения групп, увеличивающих общий размер плоской поверхности этих молекул. Исследования методом рентгеноструктурного анализа показали, что стильбен имеет совершенно плоскую молекулу [1206]<sup>1</sup>. Поэтому возникло предположение, что введение стирильной группы в молекулу 4-аминохинолина — при этом образуется 4-амино-2-стирилхинолин (8.20) — должно привести к созданию чрезвычайно активного антибактериального препарата. Это было подтверждено экспериментально (табл. 30). Введение двух стирильных групп в молекулу 4-аминопиридина привело к такому же результату [47].

Следует подчеркнуть, что соединения от (8.16) до (8.20) полностью ионизованы при pH 7. Слабо ионизованные аналоги вещества (8.20) не обладают антибактериальной активностью. Таким образом, в крупных конденсированных системах, имеющих достаточно большую плоскую поверхность (например, в молекуле акридина), очень важным лимитирующим фактором служит катионная ионизация; в менее сложных системах (например, в хинолине и пиридине) дополнительным лимитирующим фактором служит минимальная величина плоской поверхности молекулы.



На фиг. 42 изображены катионы 9-аминоакридина (8.16) и его тетрагидропроизводного (8.19). Эти изображения построены на основе простран-

<sup>1</sup> Молекула дифенила, напротив, не является плоской [800].

Таблица 30

Зависимость бактериостатического действия от степени ионизации и от величины плоской поверхности молекулы в ряду катионных лекарственных средств (данные для других соединений и других бактерий см. также в работе Альберта и др. [47])

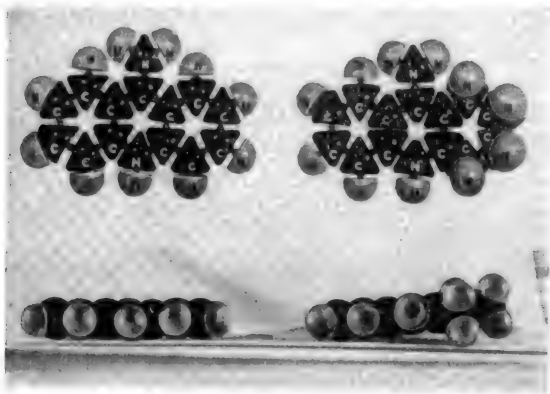
Соединение	Минимальная бактериостатическая концентрация для <i>Streptococcus pyogenes</i> после 48-часовой инкубации при 37° (среда: бульон с 10% сыворотки; pH 7,3)	Степень ионизации (pH 7,3; 37°), %	Площадь плоской поверхности, рассчитанная, как указано на фиг. 41, Å <sup>2</sup>
Акридин	1 : 5 000	1	38,5
9-Аминоакридин (8.16)	1 : 160 000	100	38,5
Бензо [h] акридин	1 : < 5 000	< 1	48,7
11-Аминобензо [h] акридин	1 : 160 000	97	48,7
Бензо (i) акридин	1 : 10 000	< 1	48,9
11-Аминобензо [i] акридин	1 : 320 000	100	48,9
Бензо [j] акридин	1 : < 5 000	< 1	48,7
11-Аминобензо [j] акридин	1 : 160 000	98	48,7
Фенантридин	1 : 10 000	< 1	38,3
6-Аминофенантридин	1 : 40 000	50	38,3
3,6,8-Триаминофенантридин	1 : 80 000	98	38,3
Бензо [f] хинолин	1 : 5 000	< 1	38,3
4-Аминобензо [f] хинолин	1 : 20 000	98	
Бензо [g] хинолин	1 : 10 000	< 1	
4-Аминобензо [g] хинолин	1 : 40 000	100	
Бензо [h] хинолин	1 : < 5 000	< 1	
4-Аминобензо [h] хинолин	1 : 80 000	96	
Хинолин	1 : < 5 000	< 1	27,9
4-Аминохинолин (8.17)	1 : < 5 000	98	27,9
4-Амино-2-стирилхинолин (8.20)	1 : 80 000	99	49,9
Пиридин	1 : < 5 000	< 1	17,4
4-Аминопиридин (8 : 18)	1 : < 5 000	98	17,4
4-Амино-2,6-дистирилпиридин	1 : 80 000	95	61,6
9-Амино-5,6,7,8-тетрагидроакридин (8.19)	1 : 5 000	100	27,9
Фенилгуанидин	1 : < 5 000	100	17
2-Антрилгуанидин (8.21)	1 : 40 000	100	38,5
Фенил-N <sub>(1)</sub> -дигуанид	1 : < 5 000	100	17
2-Антрил-N <sub>(1)</sub> -дигуанид (8.22)	1 : 40 000	100	38,5

ственных моделей, воспроизводящих истинные межатомные и вандерваальсовы расстояния. На фото ясно видна некопланарность тетрагидропроизводного (особенно вид сбоку).

Почему так важен именно размер плоской поверхности у этих катионов? Очевидно, что увеличение числа атомов в молекуле может повысить ее способность адсорбироваться на рецепторах. Это объясняется тем, что весьма слабые силы Ван-дер-Ваальса, связывающие каждый из атомов молекулы с каждым из атомов поверхности биорецептора, оказываются в совокупности внушительной силой, если с обеих сторон участвует большое число атомов. Этой силе противостоит кинетическая энергия трансляции движения молекулы, которая не увеличивается при возрастании размеров молекулы. Ионная пара, образованная катионом (лекарственный агент) и анионом (находящимся на биорецепторе), существовала бы очень недолго, если бы не эти дополнительные связи (см. гл. 5, разд. 1). Особым требованием

для рассматриваемых веществ является, как мы уже знаем, расположение атомов, ответственных за адсорбцию, в одной плоскости; это означает по-видимому, что и атомы биологической поверхности, с которыми лекарственное вещество вступает во взаимодействие, также должны находиться в одной плоскости.

Можно задать вопрос, возможно ли, что любые молекулы с достаточной степенью катионной ионизации и с плоской поверхностью достаточной

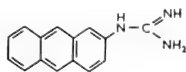


Фиг. 42. 9-Аминоакридин (катион) и его тетрагидропроизводное (также в виде катиона).

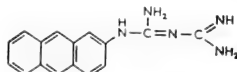
величины окажутся активными антибактериальными агентами «акридинового типа» (т. е. будут действовать и на грамположительные и на грамотрицательные бактерии в большом разведении, так что их действие не ослабляется в присутствии белка). На этот вопрос можно, по-видимому, ответить положительно, при условии, что вещество химически устойчиво. Не вполне устойчивым препаратом является метиленовый синий; его окислительно-восстановительный потенциал настолько высок, что этот краситель восстанавливается продуктами обмена некоторых бактерий, например *E. coli*, хотя он токсичен для родственного бактериального штамма *Aerobacter aerogenes*, неспособного восстанавливать метиленовый синий (продукт восстановления не ионизуется при pH 7). Однако число плоских гетероциклических соединений, способных образовывать сильно ионизованные аминопроизводные, строго ограничено, так как каждый добавочный (сверх одного) гетероатом резко снижает основность [38].

Было обнаружено, что эту трудность можно преодолеть введением короткой боковой цепи с сильно выраженной основностью в плоское ароматическое кольцо с площадью поверхности  $38 \text{ \AA}^2$  при условии, что боковая цепь и ароматическое кольцо сопряжены. В качестве такой боковой цепи может фигурировать гуанидин или дигуанид. В этом случае необязательно, чтобы ядро было гетероциклическим; вполне пригоден ароматический углеводород подходящего размера (например, антрацен). Таким образом, вполне возможно получать соединения, обладающие бактерицид-

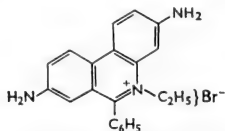
ной активностью «акридинового типа» и не имеющие гетероциклического ядра; примером могут служить два производных антрацена, приведенные в табл. 30 [47]. Биохимическое действие аналогов акридина поразительно сходно с действием самих акридинов. Так, например, и гомидийбромид (этидий) (8.23), и профлавин ингибируют одни и те же полимеразы, а именно ту, которая синтезирует ДНК, и ту (более слабое ингибирование), которая синтезирует РНК (в обоих случаях они соединяются с ДНК-матрицей [477, 1490]).



2-Антрилгуанидин  
(8.21)



2-Антрилдигуанидин  
(8.22)



Гомидийбромид (этидий)  
(8.23)

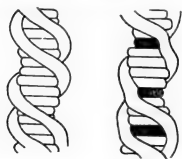
*Механизм взаимодействия акридинов и их аналогов с нуклеиновыми кислотами.* Ранее уже говорилось о том, что профлавин (1.5) (3,6-диаминоакридин) может связываться с ДНК по двум механизмам: а) в результате реакции первого порядка, в которой равновесие достигается при соотношении 4 или 5 нуклеотидов на 1 молекулу профлавина, и б) в результате более медленной реакции более высокого порядка, в которой на один нуклеотид связывается одна молекула профлавина [1110]. Второй процесс, очевидно, состоит в дальнейшей адсорбции молекул акридина в добавление к тем, которые уже присоединились к ДНК. Это было показано на примере акридинового оранжевого Стоуном и Брэдли [1380].

Лерман [898] высказал предположение, что молекулы 3,6-диаминоакридина более прочно присоединяются к ДНК посредством *интеркаляции* между двумя слоями пар азотистых оснований (эти пары были описаны в гл. 1, разд. 4). Интеркаляция происходит таким образом, что первичные аминогруппы связываются ионной связью с двумя остатками фосфорной кислоты в спирали Крика — Уотсона, а плоский скелет акридинового гетероцикла опирается на молекулы пуриновых и пиримидиновых оснований и удерживается силами Ван-дер-Ваальса [899]. На фиг. 43 показан вид этой структуры сбоку. Необходимость большой плоской поверхности у молекул, обладающих антибактериальным действием, возможно, объясняется именно такой структурой.

Очевидно (фиг. 43), что слои азотистых оснований в ДНК в норме почти соприкасаются друг с другом и сверху, и снизу. Если между этими слоями встраиваются молекулы аминоакридина, то спираль должна растянуться. Такое растяжение могло бы осуществляться путем некоторого раскручивания цепи ДНК без разрыва водородных связей.

Теперь мы расскажем, как Лерман пришел к этой теории интеркаляции. При взаимодействии профлавина с ДНК происходит трехкратное увеличение *вязкости*. Это явление объясняли тем, что «вставленные» молекулы не только вытягивают спираль, но также делают ее жесткой и выпрямлен-

ной. Далее, комплекс ДНК-профлавин, как оказалось, имеет более низкий, чем у свободной ДНК, коэффициент седиментации. Это объясняли потерей массы на единицу длины (при равных объемах масса молекулы профлавина меньше массы молекулы ДНК более чем вдвое). Эти результаты были получены в разбавленном водном растворе. Было также обнаружено, что нити, вытянутые из комплекса, дают несколько менее сложные рентгенограммы, чем те, которые получают для чистой ДНК. Меридиональный рефлекс, соответствующий расстоянию между парами оснований, равному  $3,4 \text{ \AA}$ , сохраняется, но новые положения первых экваториальных рефлексов свидетельствуют о том, что каждая молекула ДНК теперь имеет



Фиг. 43. Изображение вторичной структуры нормальной ДНК (слева) и ДНК, содержащей молекулы профлавина (справа).

Спираль рассматривается из отдаленной точки таким образом, что пары азотистых оснований и встроившие молекулы профлавина видны только в боковой проекции, а дезоксирибозофосфатный остов выглядит как ровная спираль.

более плотную упаковку, чем молекула чистой ДНК, и поэтому ее диаметр меньше [898]. Результаты исследования рассеяния рентгеновских лучей под малыми углами согласуются с представлением о палочковидной структуре комплекса (в водном растворе), линейная масса которого и радиус инерции уменьшаются при возрастании концентрации профлавина [935].

Кернс [278] с помощью радиоавтографии бактериофага T2 убедительно продемонстрировал удлинение молекул ДНК после обработки профлавином [278]. Лерман [899] затем показал, что соотношение интенсивностей флуоресценции движущегося и неподвижного раствора согласуется с представлением о перпендикулярном расположении молекул акридина по отношению к оси спирали. Скорости диазотирования первичных аминогрупп профлавина в присутствии ДНК значительно уменьшаются; это свидетельствует о том, что аминогруппа защищена от действия азотистой кислоты [900]. Было замечено, что для денатурации ДНК после образования комплекса с 9-аминоакридином требуется более высокая температура [901].

Позднее было обнаружено, что денатурация не снижает прочности связей аминокридинов с двойной спиралью ДНК [1162]. Однако в денатурированной ДНК имеются многочисленные спиралевидные участки, и присутствие акридина, вероятно, еще увеличивает их число. Результаты измерений кругового дихроизма комплекса ДНК с акридиновым оранжевым хорошо согласуются с моделью Причарда [см. 562].

Согласно расчетам, площадь плоской части пары оснований в спирали ДНК или РНК составляет около  $50 \text{ \AA}^2$ ; это больше соответствующей площади для молекулы акридина ( $38,5 \text{ \AA}^2$ ), рассчитанной так, как это изображено на фиг. 41. Однако в любой одноцепочечной модели некоторая (небольшая) часть каждой молекулы акридина будет выступать наружу. С помощью рентгеноструктурного анализа было показано, что фенантридин (8.23) встраивается в ДНК по механизму интеркаляции подобно тому, как это описано для акридинов [546].

#### в. Катионные и анионные антибактериальные средства с иным типом действия

Многие другие антибактериальные агенты также активны в виде катионов (или немногие в виде анионов), но их действие по типу отличается от действия аминокридинов.

*Трифенилметановые красители*, например парафуксин (8.6), кристаллический фиолетовый, бриллиантовый зеленый и малахитовый зеленый, — это катионные антибактериальные агенты со специфическим химическим строением (стр. 227). Равновесие между этими катионами и их основаниями (точнее псевдооснованиями) устанавливается очень медленно. Поэтому следует учитывать и константу равновесия, и константу ионизации, которые были определены Гоулдейкром и Филлипсом [587]. Из гл. 7, разд. 2, а, ясно, что антибактериальное действие соединений этого ряда тесно связано со степенью ионизации. Однако в отличие от ампроакридинов они малоактивны против грамотрицательных бактерий, а их активность в отношении грамположительных микроорганизмов сильно подавлена сывороточными белками [587]. Трифенилметановые псевдооснования жирорастворимы и легко проникают в клетки. Молекулы этих псевдооснований не имеют жесткой структуры, тогда как их катионы жесткие и совершенно плоские. Эти катионы легко образуют ковалентные связи с нуклеофильными реагентами. По-видимому, они неспособны к интеркаляции [1047].

Таким образом, трифенилметановые красители обладают весьма разнообразными физико-химическими свойствами и поэтому способны к сложным биологическим реакциям. Фрай [542] показал, что они ингибируют синтез глутамилгидроксамовой кислоты — предшественника глутамина — в бесклеточных экстрактах *Staphylococcus aureus*. Это ингибирование пропорционально концентрации катиона, а в intactном организме зависит еще и от липофильных свойств, поэтому проникаемость является одним из ограничивающих факторов. Было показано также, что кристаллический фиолетовый ингибирует образование клеточной стенки бактерии, но по иному механизму, нежели пенициллин [1095].

*Алифатические амины* (включая их *четвертичные соли*) также обладают антибактериальным действием, совершенно отличным от действия акридина. Они вызывают лизис клеточной мембраны (см. гл. 12, разд. 2) и поэтому обеспечивают быстрый бактерицидный эффект, тогда как акридины убивают бактерии медленно и применяются главным образом как бактериостатические агенты. Алифатические амины, содержащие в молекуле боковые цепи с двенадцатью и более атомами углерода, обладают сильным литическим действием. Они имеют совершенно нежесткие молекулы, которые легко адсорбируются на кислотных группах сывороточных белков. Адсорбцию можно уменьшить, если перевести амины в четвертичные производные, введя хотя бы один занимающий большой объем заместитель, например бензильную группу. Хорошо известный представитель таких четвертичных аминов — цетилтриметиламмонийбромид. В этом ряду также наблюдается возрастание активности при повышении pH, хотя лекарственный агент все время остается полностью ионизованным [193, 569]. Хлоргексидин (хизитан), применяемый в качестве антисептического средства при ожогах и случайных ранениях, представляет собой 1,6-ди(4-хлорфенилдигуанидо)гексан.

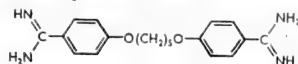
Некоторые алифатические сульфокислоты и сульфаты эфиров, а именно те, которые содержат цепи с 12 атомами углерода и более (например, тетрадецилсульфат натрия), обладают умеренной антибактериальной активностью. Они действуют в виде анионов [569, 1001, 1167].

## 2. Антипротозойные средства

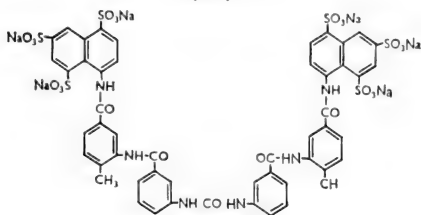
Многие активные биоцидные средства, обладающие избирательным действием на простейших, представляют собой соли сильных органических оснований, а один очень важный трипаноцидный агент является солью сильной органической кислоты.

*Жутиковые*. Трипаносомоз у человека можно предотвратить с помощью инъекций (раз в три месяца) пентамидина (8.24) или сурамина (8.25).

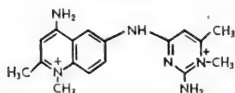
Интересно поразмыслить о том, каким образом оба эти типа агентов, из которых один дикатион, а другой поланион, могут иметь одно и то же действие. Возможно, это объясняется тем, что и те и другие способны расщеплять нуклеопротейд на составные компоненты: анионный агент — путем соединения с белком (гистоном), который обычно экранирует большую часть ДНК, а катионный агент — путем соединения с нуклеиновой кислотой [1078, 1079]. Именно такой результат был получен в культуре, *in vitro*, но при этом возникает целый ряд вопросов в связи с избирательностью; возможно, терапия уже развившейся инфекции связана с какими-то другими механизмами. Ниже мы коротко сообщим о том, что известно о действии антитрипаносомных аминов, особенно пентамидина, применяемого для лечения заболеваний у человека, а также хинапирамина (8.26) и гомидия (8.23), применяемых для лечения рогатого скота.



Пентамидин  
(8.24)



Сурамин  
(8.25)



Хинапирамин (дикатион)  
(антирицид)  
(8.26)

Пентамидин и родственный ему стильбамидин быстро поглощаются трипаносомами и сразу же проявляют свое трипаностатическое действие как *in vitro*, так и *in vivo*. В конце концов паразиты погибают после того, как в игру вступают защитные силы организма (хозяина); это происходит через несколько дней. Уилльямсон и Макадам сообщают данные о распределении этих и других аминов в трипаносомах [1547].

Излечению способствует еще один, косвенный фактор. Паразиты, выжившие после непосредственного воздействия лекарственного вещества, сохраняют инфекционность, но в их клетках при этом остаются многочисленные содержащие лекарственный агент гранулы. Когда эти паразиты погибают, из них высвобождается лекарственное вещество и, кроме того, антиген, который стимулирует выработку антител организмом хозяина. Такой опосредованный процесс, вероятно, объясняет медленное развитие лечебного действия диамидиновых лекарственных средств и их пролонгированный про-



филлактический эффект [547, 1080]. Если блокировать иммунную реакцию у крысы, удалив селезенку или вводя парентерально медь, то трипаносомоз у них перестает поддаваться лечению стильбамидином, сурамином и хинапирамином [1080].

Три других трипаноцидных средства также обладают как прямым, так и непрямым действием (см. выше): это гомидий, хинапирамин и сурамин [659]. Назначение фенольной группы гомидия (3,8-диамино-6-фенил-5-этил-фенантридийбромид) (8.23) заключается в предупреждении неспецифического поглощения (вероятно, за счет стерических препятствий); благодаря этому возрастает специфичность действия. По-видимому, гомидий взаимодействует с ДНК по механизму интеркаляции, подобно тому как это описано выше для акридинов [546, 1491].

Многие соединения, родственные пентамидину и гомидию, также могут служить эффективными антитрипаносомными агентами; что же касается сурамина, то он утрачивает активность даже при самом незначительном изменении его структуры. Акрифлавин (эуфлавин, триафлавин, 3,6-диамино-10-метилакридинийхлорид) обладает трипаностатическим действием в опытах на мышах, но оказался неэффективным при трипаносомозах у человека.

Вследствие того что патогенные трипаносомы трудно культивировать *in vitro*, большинство опытов было поставлено на родственном им простейшем *Crithidia oncopelti* (его также называют *Strigomonas*), который бурно разрастается в пробирке. Хинапирамин (8.26), как было выяснено, задерживает рост этого организма, не убивая его. Этот препарат тормозит синтез РНК, но не способен проникать в ядро. Хинапирамин нарушает функцию рибосом, ослабляя их связь с белком [1048, 1050].

Было обнаружено, что пиримидиновое (но не хинолиновое) кольцо в молекуле хинапирамина ответственно за подавление включения пуринов. Опыты с разными производными пиримидина показали, что для эффекта ингибирования необходимо присутствие четвертичного атома азота в молекуле [1049]. У *Strigomonas*, резистентных к хинапирамину, сохраняется чувствительность к фенантридинам, что указывает на какой-то иной механизм накопления, а возможно, и действия. Фенантридины, например гомидий, ингибируют синтез РНК, что приводит к гибели клеток.

Большинство катионных трипаноцидных средств имеет по две группы, способные к образованию водородных связей (обычно это —  $\text{NH}_2$ -группы), находящиеся на большом расстоянии друг от друга (особенность, которая, вероятно, весьма существенна). Хинапирамин и фенантридины находятся в равновесии со своими псевдооснованиями (об этих основаниях см. выше). Ароматические диамидины, однако, представляют собой несложные по структуре основания с  $\text{pK}_a 11$ .

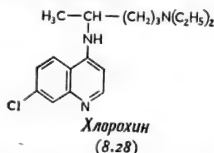
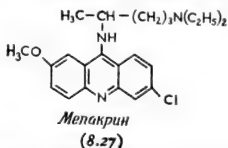
Лейшманиоз — другое заболевание, вызываемое жгутиковыми, — также поддается лечению ароматическими диамидинами.

**Споровики.** Ни антибактериальные, ни трипаноцидные акридины не действуют на малярийный плазмодий. Однако акридины приобретают высокую противомаларийную активность при введении в их молекулу в качестве заместителей: 1) галогенов или алкильных групп или же 2) боковой цепи основного характера в положение 9. Кватернизация приводит к утрате активности. Мепакрин (8.27) (хинакрин, атебрин) был первым синтетическим акридиновым противомаларийным средством, нашедшим широкое применение. Он оказался особенно активным против шизонтов — бесполой формы паразита, находящихся в эритроцитах хозяина. Более подробные сведения о зависимости между строением и действием акридиновых противомаларийных средств можно найти в книге Альберта «Акридины» [28].

Более простым аналогом хинакрина является бесцветный хлорохин (8.28) — 7-хлор-4-δ-диэтиламино-α-метилбутиламинохинолин. Хлорохин так-

же служит эффективным шизонтоцидным средством и часто применяется при лечении малярии. Ни хинакрин, ни хлорохин не имеют трипановидного действия; хинакрин (но не хлорохин) обладает еще и антибактериальной активностью, но только *in vitro*.

Обычно принято считать, что оба противомаларийных средства действуют, соединяясь с нуклеиновой кислотой паразита. Если противомаларийные средства, нарушающие метаболизм фолиевой кислоты (пириметамин, сульфадиазин, хлоргуанид — см. гл. 6), повреждают шизонты только на стадии деления (нарушая митоз), то препараты, способные инактивировать нуклеиновую кислоту (особенно мепакрин, хлорохин и хинин), действуют на шизонты на любой стадии при условии, что эти препараты попадают в эритроциты. Когда малярийные паразиты разрушают гемоглобин в эритроцитах, эти последние приобретают способность поглощать гораздо больше хлорохина, мепакрина и хинина, чем обычно, — вот почему эти препараты служат самыми активными противомаларийными средствами, направленными против паразитов, находящихся в этих клетках [951].



Мепакрин, хлорохин и хинин ингибируют синтез нуклеиновых кислот у цыплят, зараженных *Plasmodium gallinaceum*, в концентрации  $10^{-5}$  M. Такие же результаты были получены в опытах *in vitro* для этого плазмодия и для *Pl. berghei* (взятая в опыт кровь была полностью инфицирована паразитами). В этих опытах наблюдалось резкое уменьшение включения  $\text{P}^{32}$ , добавленного в виде ортофосфата. Приведенные данные согласуются с материалом, изложенным в следующих двух абзацах, хотя формально они с ним и не связаны. Нужно отметить, что гаметоцидные 8-аминохинолины, например памахин (2.20), не подавляют включение фосфора.

Хлорохин ( $10^{-4}$  M) *in vitro* соединяется с ДНК (опыты с зобной железой теленка), но только в том случае, если она не была с помощью нагревания превращена в одноцепочечную [62]; было также показано, что он сильно ингибирует очищенную ДНК-полимеразу (из *E. coli*), а также — слабее — РНК-полимеразу. В обоих случаях хлорохин действует, соединяясь с заправкой (ДНК) [331]. Мепакрин и хинин действуют одинаково, но в то время как действие мепакрина не зависит от строения оснований ДНК, для хлорохина требуется, чтобы аминогруппа, находящаяся в положении 2 гуанина, оставалась свободной. Мепакрин оказался гораздо более сильным ингибитором РНК-полимеразы, чем хлорохин или хинин. Мочевина снимает действие хинина только на ДНК-полимеразу; это наводит на мысль о том, что ингибирование синтеза фермента хинином осуществляется, по крайней мере отчасти, за счет образования водородной связи [1068].

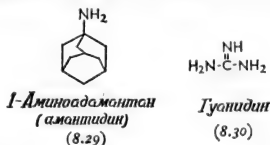
Мепакрин легко внедряется в ДНК (интеркаляция), точно так же как и более простые акридины, описанные в разд. 3,6 настоящей главы [899]. Об интеркаляции хлорохина между основаниями ДНК свидетельствуют снижение скорости седimentации, увеличение вязкости и повышение температуры плавления. Хлорохин очень слабо реагирует с одноцепочечной ДНК. Было высказано предположение, что боковая цепь, находящаяся в положении 4 хлорохина, образует поперек мелкой бороздки двойной спирали дополнительную ионную связь с фосфатными анионами комплементарных цепей ДНК (интервал между фосфатными группами составляет 10 Å,

считая поперек мелкой, и 20 Å — поперек глубокой бороздки). Эта боковая цепь достаточно длинна для того, чтобы перекрыть мелкую, но не глубокую бороздку [62].

Данные, приведенные в последних двух абзацах, объясняют избирательное действие описываемых противомаларийных препаратов лишь частично.

#### д. Противовирусные средства

Из немногочисленных известных противовирусных агентов, эффективных при заболеваниях человека, одним из наиболее интересных является катионное соединение 1-аминоадамантан (амантидин) (8.29). 2-Аминоадамантан и еще несколько более простых катионных соединений проявляют противовирусную активность лишь в лабораторных опытах.



Адамантан, или трициклодекан ( $C_{10}H_{16}$ ), — это углеводород, в котором атомы углерода образуют нечто вроде решетки. 1-Аминоадамантан<sup>1</sup> (8.29) оказывает выраженное противогриппозное действие (в клинике). Это средство было испытано в двойном слепом опыте на 238 добровольцах, которые были разбиты на соответственно подобранные группы. Всем им была введена живая вакцина вируса азиатского гриппа. Последующее развитие инфекции у восприимчивых к ней индивидуумов показало, что число случаев заболевания снизилось на 60% [765]. Аналогичный эксперимент, поставленный на 850 добровольцах, показал, что амантидин является высокоэффективным профилактическим средством, а также смягчает симптомы гриппа у заболевших [1517].

На электронно-микроскопических снимках видно, что частицы вируса гриппа поглощаются (путем фагоцитоза) клетками млекопитающих. Соли самых простых алифатических аминов и даже хлористый аммоний препятствуют такому поглощению вируса, но их действие легко устранить простым промыванием клеток. Напрашивается мысль, что все эти катионные вещества создают помехи проникновению вируса, накапливаясь на клеточной поверхности и изменяя ее заряд. Из указанных аминов самым эффективным при испытаниях на интактных животных оказался 1-аминоадамантан; возможно, только он один способен достигать клеточной мембраны и концентрироваться на ней. Таким образом амины, по-видимому, действуют только на вирус гриппа штамма А [522].

Гуанидин (8.30) или вернее катион гуанидиния — это очень сильное основание; он ингибирует репликацию вирусов, блокируя фермент репликазы. Предполагают, что гуанидин нарушает какой-то жизненно важный процесс метилирования, так как его действие снижается метионином и холином — главными биологическими метилирующими агентами [938].

Акридиновый оранжевый (3,6-бис-диметиламиноакридин) препятствует соединению ДНК бактериофага с белком и тормозит синтез новой ДНК [419]. Это его свойство может послужить ключом к созданию новых химиотерапевтических противовирусных средств (см. разд. 3.6, о способах присоединения аминокридинов к ДНК).

<sup>1</sup> Вычисленное значение  $pK_a$  составляет примерно 10,8.

*е. Фармакодинамические средства*

Ацетилхолин (4.1) — важнейший нервный медиатор у животных — представляет собой алифатический четвертичный амин и поэтому полностью ионизован при всех условиях. Благодаря этому свойству он сорбируется только на внешней стороне обычных клеточных мембран. Правда, нельзя отвергать возможность существования таких клеточных мембран, которые благодаря своему химическому строению способны пропускать ацетилхолин. Пикотин (4.17), ингибирующий действие ацетилхолина на некоторых участках, действует в виде катиона, так как его подметилат (кватернизованный азот в пирролидиновом кольце) не менее активен [110]. Ареколин (11.40) в виде катиона также обладает сильным ацетилхолиноподобным действием (гл. 11, разд. 4, в). В экспериментах на подвздошной кишке морских свинок (рН в пределах от 6,05 до 9,36) было обнаружено, что активность нейтральных молекул ареколина составляет всего 2% активности катионов [258].

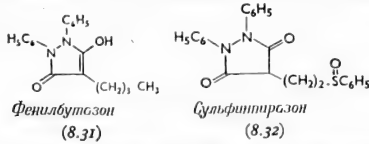
Некоторые ганглиоблокирующие препараты, применяемые в качестве гипотензивных средств, представляют собой четвертичные соли, т. е. они являются катионными соединениями; однако и те препараты, которые не являются четвертичными соединениями, по-видимому, также действуют в виде катионов. Сравнение блокирующей активности пемпидина (4.8), мекамилamina (4.9) и его N-метильного производного (димекаина) с активностью их четвертичных аналогов, проведенное на нервно-мышечном соединении (грудобрюшной нерв — диафрагма у крысы), показало, что различия могут быть очень большими — почти в два раза [185]. (В этих опытах вместо ганглионарного синапса использовали нервно-мышечное соединение в связи с возникшими при проведении опытов затруднениями.)

Подавляющее большинство алкалоидов, местноанестезирующих и антигистаминных средств, а также способных к ионизации депрессантов имеют величины  $pK_a$  между 6 и 8, т. е. при физиологических значениях рН ионы и нейтральные молекулы находятся в равных концентрациях. Эти вещества будут рассмотрены ниже, в разд. 4 и 5. Из всех алкалоидов выделяются своей высокой степенью ионизации атропин ( $pK_a$  10) (4.14) и тубокурарин (4.19). Тубокурарин — это четвертичный амин ониевого типа, и поэтому он полностью ионизован при всех значениях рН. Другие ониевые амины, часто применяемые в медицине, — это карбахол (10.27), неостигмин (4.26), соли гексаметония (4.21), соли пентолия (4.24), соли суксаметония (4.22) и галламин (4.23). Об исследованиях, связанных с ионизацией норадrenalина (9.13) и его N-алкилгомологов, см. в разд. 1 настоящей главы (там, где идет речь о цвиттерионах).

Здесь следует еще упомянуть о неорганических катионах, которые будут подробно рассмотрены в гл. 9. Например, проникновение натрия в клетку — это конечная стадия распространения нервного импульса между двумя клетками: по прекращении импульса натрий тотчас же удаляется («выкачивается») из клетки.

Известны крайне немногочисленные фармакодинамические средства, функционирующие в виде анионов. Фенилбутазон (бутазолин) (8.31) обладает высокой противовоспалительной активностью (он резко снижает количество мочевой кислоты в крови) именно в виде аниона. Действие препарата может быть усилено, если посредством введения соответствующего заместителя повысить его кислотность (до  $pK_a$  3 или даже 2) [267]. Эти препараты блокируют реабсорбцию мочевой кислоты в клетках цилиндрического эпителия почечных канальцев. Установление корреляции между анионной ионизацией препарата и его способностью снижать количество мочевой кислоты в крови привело к открытию широко применяемого в клинике высокоактивного препарата сульфинпразона (антурана) (8.32).

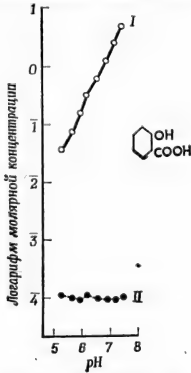
Для многих широко применяемых противовоспалительных средств между ионизацией с образованием анионов и биологическим действием отмечается положительная корреляция при условии, что они достаточно липофильны для того, чтобы достичь места своего действия (к числу таких препаратов относятся индометацин, салицилаты и многие другие производные



фенола [1336, 1527, 1528]). Возможно, этот факт служит химической основой наблюдаемой корреляции между противовоспалительным действием, с одной стороны, и разобщением фосфорилирования в митохондриях — с другой (см. гл. 1, разд. 3,г).

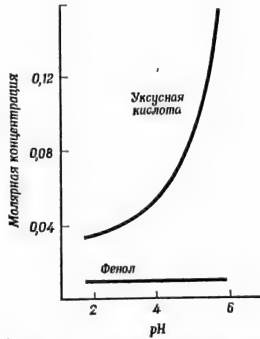
#### 4. Вещества, менее активные в ионизованном состоянии

В 1921 г. Фермаст обнаружил, что слабые кислоты проявляют наибольшую биологическую активность при тех значениях pH, при которых они очень слабо ионизованы. В этом можно убедиться на примере подавления



Фиг. 44. Зависимость концентраций салициловой кислоты, необходимых для прекращения деления клеток *Echinarachnitis parva*, от pH среды [1343].

I — весь препарат в целом (ионы + нейтральные молекулы).  
II — нейтральные молекулы.



Фиг. 45. Зависимость концентраций фенола ( $pK_a$  9,9) и уксусной кислоты ( $pK_a$  4,8), необходимых для прекращения роста обычных плесневых грибов, от pH среды [706].

дробления яиц иглокожих под действием салициловой кислоты [1343]. Верхняя кривая на фиг. 44 показывает, что эта кислота более активна при pH 5, чем при всех других испытывавшихся значениях pH. При pH 5 количество

недиссоциированной салициловой кислоты ( $pK_a$  3,0) значительно больше, чем при любых более высоких значениях pH, а именно 0,99% (см. приложение 2). Если рассчитать только содержание салициловой кислоты, находящейся в виде молекул, то получается нижняя кривая, которая ясно показывает, что ингибирующая концентрация не зависит от pH. Единственное объяснение сводится к тому, что дробление яиц ингибируют нейтральные молекулы, а не анионы салициловой кислоты. Можно ожидать, что при более низких значениях pH салициловая кислота будет служить более сильным ингибитором, так как в этих условиях отношение концентрации молекул к концентрации анионов повышается. Казалось бы, непонятно, отчего это обстоятельство никак не используется. Однако, как выяснилось, попытки повысить активность салициловой кислоты снижая pH, встречаются с некоторыми трудностями. Во-первых, организм может обнаружить чувствительность к изменению pH. Во-вторых, снижение pH может сопровождаться изменением ионизации рецептора для салициловой кислоты и, следовательно, изменением сродства к этому агенту (см. ниже, разд. 6).

Было также обнаружено [328], что все представители ряда соединений, состоящего из 30 барбитуратов, проникают в яйца и в личинки морского ежа *Arbacia* исключительно в форме молекул. Более того, вызванные ими задержка деления клеток и ингибирование дыхания также оказались всецело обусловленными действием молекул [648].

Наблюдая действие слабой кислоты на биологический объект, легко убедиться в том, что ее количество, требуемое для достижения эффекта, постоянно, независимо от pH среды (если только pH по меньшей мере на одну единицу ниже, чем  $pK_a$ , что обеспечивает отсутствие ионизации токсического агента). На фиг. 45 приведены кривые, иллюстрирующие влияние pH на концентрации фенола и уксусной кислоты, необходимые для остановки роста различных типов плесени. При pH, испытанных в данном опыте (от 2 до 6), как можно заметить, количество фенола, потребное для этой цели, остается постоянным, тогда как количество уксусной кислоты, необходимое для подавления роста плесени, при снижении pH уменьшается. Дело в том, что  $pK_a$  фенола составляет 9,9 и, следовательно, фенол при всех этих значениях pH остается неионизованным, в то время как  $pK_a$  уксусной кислоты составляет 4,8, т. е. она при pH 5,8 ионизована на 90%, а при pH 3,8 — только на 9% и т. д.

Все эксперименты такого рода будут неудовлетворительными, если не будет подобран контроль, который позволит выяснить, не влияет ли само изменение pH на организм подопытного животного, как это часто случается.

Примеры препаратов, оказывающих значительно более сильное действие в виде нейтральных молекул по сравнению с соответствующими ионами, приведены в табл. 31, в которой показано наркотизирующее действие различных веществ на червя *Arenicola* [327]. Можно заметить, что действие неэлектролитов, например хлороформа, не зависит от pH. Эти неионизирующие вещества служат очень удобным контролем, так как с их помощью легко показать, что изменение pH не влияет на организм этих червей. Эффективность слабых оснований, например кокаина, возрастает с увеличением pH, т. е. пропорционально подавлению их ионизации. Аналогичным образом активность слабых кислот (4 изомерных барбитурата) повышается с уменьшением pH, т. е. опять-таки пропорционально подавлению ионизации. Действие наркотических средств легко снять в каждом случае, промывая червей морской водой. Впрочем (хотя авторы этого и не сделали), легко считать, что в токсическом действии названных соединений ионы все же принимают участие, хотя и небольшое.

Подобного рода эксперименты с червем *Arenicola* упрощаются в связи с тем фактом, что само по себе изменение pH на этот организм не влияет. Менее удачными оказались опыты по изучению действия производных хини-

Таблица 31

Зависимость между ионизацией различных наркотизирующих средств и их действием на червя *Arenicola* (минимальные наркотические дозы, вызывающие обездвиживание червя через 5 мин, г/100 мл морской воды) [327]

Вещество	pH 7,0	pH 8,0	pH 9,0
<i>Неэлектролиты</i>			
Изопропиловый спирт	2,5	2,5	2,5
Изоамиловый спирт	0,1	0,1	0,1
Хлороформ	0,012	0,012	0,025
Хлорбутол	0,025	0,025	0,025
<i>Слабые основания (pK<sub>a</sub> около 8,5)</i>			
Кокаин	0,01	0,005	0,0025
Прокаин	0,002	0,001	0,0005
Бутакаин (бутин)	0,001	0,0002	0,0002
<i>Барбитуровые кислоты (pK<sub>a</sub> около 8,0)</i>			
Изоамилэтилбарбитуровая кислота (амитал)	0,006	0,025	0,05
Пропилметилкарбилилэтилбарбитуровая кислота (нембутал)	0,003	0,006	0,012
Диэтилкарбилилэтилбарбитуровая кислота	0,006	0,012	0,05
n-Амплэтилбарбитуровая кислота	0,006	0,012	0,05

на на бактерии. Авторы, проводившие эти исследования, продемонстрировавшие тот факт, что активность этих лекарственных препаратов при повышении щелочности среды возрастает (Z. Immunitäts, 1922, 34), полагали, что им удалось доказать преобладающее значение нейтральных молекул для их активности. К сожалению, они не учли ионизирующего влияния щелочи на рецепторы бактерий (см. разд. 6 настоящей главы).

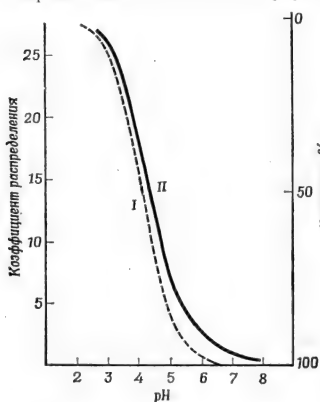
### 5. Вещества, в биологическом действии которых принимают участие и ионы, и молекулы

Вполне вероятно, что многие вещества проникают в клетки в виде нейтральных молекул, но осуществляют свое биологическое действие в виде анионов или катионов. Это не противоречит принципам физической химии, так как (см. выше, разд. 2) ионы проходят через плазматическую мембрану с гораздо большим трудом, чем молекулы, и гораздо легче адсорбируются на рецепторе. На фиг. 46 показано, что поглощение бензойной кислоты дрожжами обратно пропорционально проценту ионизации.

Известны многочисленные вещества, биологическая активность которых зависит от наличия большого количества нейтральных молекул; однако у таких веществ и та их часть, которая существует в виде ионов, также способствует увеличению активности. Ниже будут рассмотрены соответствующие примеры.

При проверке биологической активности слабой кислоты обычно оказывается, что для получения стандартной реакции (независимо от pH среды) необходимо одинаковое количество вещества при условии, что *все* значения pH не менее чем на одну единицу ниже pK<sub>a</sub>. В этих условиях кислота понижена слабо (см. выше, разд. 1), и поэтому биологическая активность прежде всего определяется молекулами. Это иллюстрирует левая часть фиг. 47. Однако если pH начинают превышать значения pK<sub>a</sub>, то для обеспечения постоянства биологического действия требуется все возрастающее количество вещества. Следовательно, для получения стойкого биологического эффекта требуется либо постоянное количество молекул (см. выше,

разд. 4), либо постоянно убывающее количество молекул в связи с тем, что анион обладает тем же, что и молекулы, биологическим действием, но менее выраженным. Фиг. 47 иллюстрирует второй случай (показано влияние pH



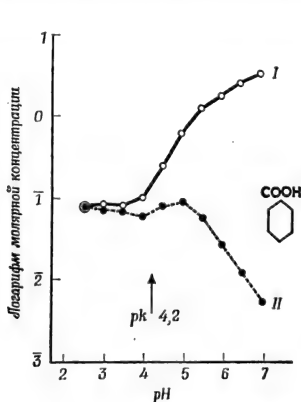
на действие бензойной кислоты на плесневый гриб *Mucor*), который встречается гораздо чаще, нежели первый.

Указанный метод построения кривых был разработан Саймоном [1326], обнаружившим, что у громадного большинства веществ, наиболее активных в состоянии наименьшей ионизации, ионы все же обладают активностью, пусть и в более слабой степени.

Фиг. 46. Поглощение бензойной кислоты пекарскими дрожжами при различных значениях pH.

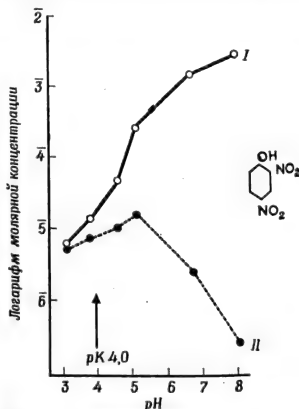
Поглощение обратно пропорционально степени ионизации в %. I. Коэффициент распределения всего препарата в целом (клетка/жидкость). II. Степень ионизации, % [204].

Известны многочисленные биологически активные фенолы, у которых нейтральные молекулы заметно активнее ионов, также обладающих в свою



Фиг. 47. Зависимость концентраций бензойной кислоты, необходимых для предупреждения роста гриба *Mucor*, от pH среды [371].

I — весь препарат в целом (ионы + нейтральные молекулы); II — нейтральные молекулы.



Фиг. 48. Влияние изменения pH среды на противогрибковое действие динитрофенола ( $pK_a$  4,0) (на *Trichoderma viride*) [1328].

I — весь препарат в целом (ионы + нейтральные молекулы); II — нейтральные молекулы.

очередь некоторой активностью. Фиг. 48 иллюстрирует этот вид активности. При взгляде на кривые, приведенные на нем, сразу же становится ясно, что

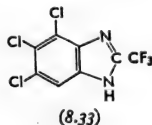


такие вещества выгодно применять при тех значениях pH, при которых они почти совсем не ионизованы. Нет ничего удивительного в том, что в менее кислых растворах приходится применять большие количества вещества для получения стандартного биологического действия; но удивляет то, что это избыточное количество не настолько велико, чтобы поддерживать число нейтральных молекул на стандартном уровне. Следовательно, ионы также обладают какой-то частью биологической активности, свойственной нейтральным молекулам. Совершенно очевидно, что этот случай противоположен тому, который иллюстрирует фиг. 44.

На фиг. 49, где приведены кривые, характеризующие активность двух фенольных эфиров со слабым токсическим действием, показано также, что изменение pH весьма незначительно влияет на *Trichoderma*. Эти эфиры структурно близки к фенолу, действие которого охарактеризовано на фиг. 48, но они неспособны ионизоваться.

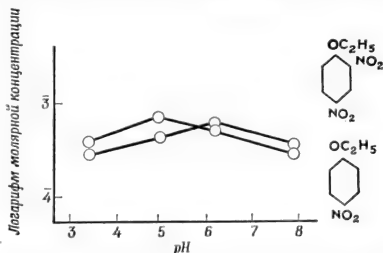
Конечное место действия нитрофенолов, используемых в качестве гербицидов, неизвестно. По данным Блекмана [183], нитрофенолы оказывают гербицидное действие лишь при высоких концентрациях; поэтому вполне возможно, что их действие заключается в осаждении клеточных белков и разрыве клеточной мембраны, а не в разобщении процессов фосфорилирования и окисления (см. также раздел о фенолах в гл. 12).

Гербициды из группы 2-трифторметилбензимидазолов активны только при pH от 5 до 8. Наиболее активный из них, 4,5,6-трихлор-2-трифторметилбензимидазол (8.33), имеет  $pK_a$  6,18 [269]. Эти вещества даже в концентрации  $10^{-6}$  M являются активными разобщающими агентами окислительного фосфорилирования, и возможно, что именно этим и определяется их гербицидное действие, поскольку оно проявляется даже при больших разведениях [784].



Аналогичные результаты были получены для оснований. Так, пириметамин (6.25), который имеет  $pK_a$  7,2, лучше поглощается бактериями из растворов, pH которых достаточно высоко для того, чтобы в растворе находилось большое количество нейтральных молекул. Однако ключевой фермент (дигидрофолатредуктаза) ингибируется только катионами [1568].

Много подобных примеров встречается среди слабых оснований. Исследование действия пяти местноанестезирующих препаратов (кокаина, прокаина, стоваина,  $\beta$ -эукаина и бензилбензоилэконина) на роговицу глаза кро-



Фиг. 49. Относительно слабо выраженное влияние изменения pH среды на противогрибковое действие некоторых фенольных эфиров (на *Trichoderma viride*) [1329].

Таблица 32

Примеры слабых кислот, у которых нейтральные молекулы более активны, чем соответствующие анионы

Вещество	Токсическое действие	Источник данных
<i>Органические кислоты</i>		
Нормальные насыщенные жирные кислоты от муравьиной до пеларгоновой	Торможение роста обычных плесневых грибов	[705]
Различные жирные кислоты	Торможение роста <i>Pseudomonas pyocyanea</i>	[1183]
Нормальные насыщенные жирные кислоты до стеариновой кислоты включительно	Бактерицидное действие (высшие жирные кислоты растворяются в щелочных растворах, и поэтому создается ложное представление об их большей активности в щелочной среде)	[460]
Пропионовая, капроновая и каприловая кислоты	Торможение роста грибов <i>Aspergillus</i> и <i>Trichophyton</i>	[527]
Галогенированные жирные кислоты	Торможение роста обычных плесневых грибов	[706]
Бензойная кислота	Торможение роста бактерий и грибов	[371]
Бензойная и салициловая кислоты	Торможение дробления оплодотворенных яиц иглокожих	[1343]
Бензойная и салициловая кислоты	Торможение роста винных дрожжей <i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	[1173]
Бензойная, салициловая и <i>п</i> -аминобензойная кислоты	Торможение роста обычных плесневых грибов	[707, 708]
Бензойная и фенилуксусная кислоты	Торможение роста бактерий ( <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>E. coli</i> )	[595]
Барбитураты	Торможение дробления оплодотворенных яиц иглокожих	[328]
<i>Неорганические кислоты</i>		
Сернистая кислота	Торможение роста дрожжей	[1173]
Плавиковая кислота	Торможение роста дрожжей и стафилококков	[1205]
Фениларсенноксиды (содержащие и не содержащие карбоксильные и сульфокислотные группы)	Иммобилизация спирохет и трипаносом	[450]
Мышьяковистая кислота	Уничтожение личинок падальной мухи	[1194]
<i>Фенолы</i>		
Фенол	Торможение роста обычных плесневых грибов	[707]
Хлорированные фенолы (3 соединения)	Бактерицидное действие на <i>Staphylococcus aureus</i>	[1075, 1076]
Хлор- и нитрофенолы	Торможение дробления оплодотворенных яиц иглокожих	[848]
3,5-Динитро- <i>о</i> -крезол	Торможение роста грибов <i>Trichoderma</i> и <i>Fusarium</i>	[220; 1326]
	Гибель яиц насекомых ( <i>Ephestia</i> и <i>Rhopalosiphum</i> )	[423]
Нитро- и аминонитрофенолы (8 соединений)	Торможение роста бактерий ( <i>E. coli</i> )	[361]

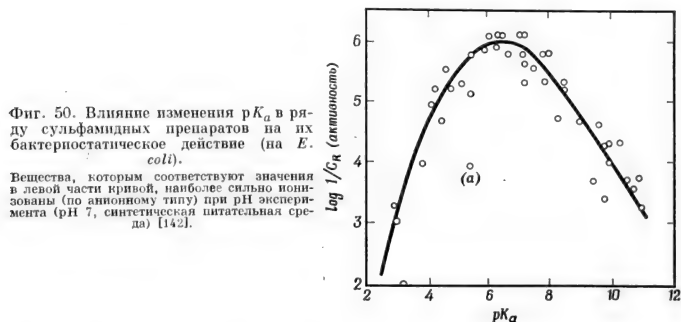
лика при различных значениях рН показало, что их активность почти пропорциональна количеству имеющихся в растворе нейтральных молекул [1437]. Летальное действие различных органических оснований ( $\alpha$ -нафтил-амина, хинолина, атропина, хинина, стрихнина, амиламина, конинина и пиперидина) на парамеции обусловлено, как оказалось, в основном, нейтраль-

ными молекулами [366]. Однако расчет показывает, что в обоих этих случаях в общей биологической активности есть и вклад ионов, и возможно, что именно ионы воздействуют на рецептор. Так, например, известно, что стимулирующее действие прокаина на сердце черепахи зависит исключительно от катиона [94]. Более того, если нервный ствол млекопитающего освободить от соединительной ткани, то анестезирующее действие становится прямо пропорциональным степени ионизации [1201].

Многие алкалоиды, а также местноанестезирующие и антигистаминные препараты имеют  $pK_a$  около 8, т. е. при pH 7,3 примерно 16% этих агентов остаются неионизованными. Они почти наверняка проникают в клетки в виде нейтральных молекул, но осуществляют свое биологическое действие в виде катионов.

В табл. 32 приведено много веществ, нейтральные молекулы которых более токсичны, чем ионы. В эту таблицу включены оба типа веществ, охарактеризованных на фиг. 44 и 47.

Было проведено испытание действия 46 сульфаниламидных препаратов на *E. coli* при pH 7 и построена кривая зависимости антибактериальной



активности от  $pK_a$  кислотной группы ( $pK_a$  основной ароматической группы мало меняется при введении заместителя в сульфамидогруппу). Результаты, приведенные на фиг. 50, свидетельствуют о максимальной активности сульфаниламидных препаратов, имеющих значения  $pK_a$  между 6 и 8. Однако сульфатуанидин обладает довольно сильным антибактериальным действием, не будучи способным к кислотной ионизации. Поэтому можно сделать вывод, что биологическая активность сульфаниламидных препаратов пропорциональна не ионизации, а величине отрицательного заряда на  $SO_2$ -группе [142]. Впоследствии было показано, что в другом ряду сульфаниамидов, состоящем из 43 членов, никакой корреляции между  $pK_a$  и активностью в отношении *E. coli* не имеется [1301]. (О действии сульфаниламидных препаратов см. гл. 6, разд. 3.)

Колоколообразные кривые, сходные с той, которая изображена на фиг. 50, были получены при изучении зависимости между  $pK_a$  (для аминогрупп) симпатомиметических аминов и логарифмами биологической активности. Мерой биологической активности служили сокращение изолированной матки кролика и релаксация изолированной кишки кролика [1304]. Для обоих органов при значениях  $pK_a$ , лежащих между 9,7 и 10,6, получается плоский максимум.

## 6. Ионизация рецепторов

Значения  $pK_a$  рецепторов нельзя предсказать заранее, так как об их химической структуре мало что известно. По-видимому, катионные лекарственные препараты соединяются с анионными рецепторами, которые могут иметь значения  $pK_a$  от 2 до 7 (наличие фосфатных групп), от 3 до 6 (карбоксильные группы) или 10 (остатки тирозина, пиримидина, цистеина). Катионные рецепторы, возможно, имеют  $pK_a$  4 (аденин), 7 (гистидин), 10 (лизин), 13 (аргинин).

*Наружные клеточные рецепторы.* Далеко не все рецепторы находятся внутри клеток. Например, ацетилхолин и метиленовый синий воздействуют на сердце лягушки, не проникая в клетки [318]. Это наблюдение совпадает с недавно полученными данными о том, что многие ферменты, связанные с ассимиляцией и другими процессами, находятся на наружной поверхности клетки. Например, известно, что у дрожжей такое наружное расположение характерно для аденозинтрифосфатазы и нескольких гидролаз [1239].

$pK_a$  наружного рецептора во многих случаях можно измерить, определяя реакцию на лекарственный препарат при различных pH, если только известно, что: а) клетка не повреждается при изменении pH и б) степень ионизации препарата в этих пределах pH не меняется. О применении этого метода для изучения места действия аминокрептинов на *E. coli* см. разд. 3.а настоящей главы.

Не все исследователи обратили должное внимание на возможность изменения степени ионизации рецептора в связи с изменением pH. Было обнаружено, например, что дыхание эритроцитов птиц (цельных или гемолизированных) ингибируется хинином при pH 10 в 2,5 раза сильнее, чем при pH 5. Поскольку  $pK_a$  хинина составляет 8,4, было сделано заключение, что это ингибирование вызывают молекулы, а не ионы (т. е., говоря словами авторов, основание хинина, а не его соли). Возможность же ионизации кислотного рецептора при более высоком pH (после чего он может связать дополнительные количества катионов хинина) не упоминалась (Biochem. Zeitschr., 1922, 128).

*Внутриклеточные рецепторы.* Можно считать, что мы имеем дело с *наружным* рецептором, если: а) вещества, содержащие липофильные группы, оказываются не более эффективными, чем те, у которых этих групп нет; б) вещества, образующие только 70% активной ионной формы (при pH эксперимента), не более активны, чем те, которые в этих условиях ионизованы полностью. В противном случае можно считать, что рецептор находится *внутри* клетки, и тогда изучение ионизации становится более трудным, поскольку особенно важное значение приобретает pH среды, окружающей рецептор.

Уодделл и Батлер [1474] предложили эффективный метод определения внутриклеточного pH. Для этого необходимо знать три параметра: pH наружной среды, а также внеклеточную и внутриклеточную концентрацию иона-индикатора, для которого мембрана непроницаема (через нее могут легко проникать нейтральные молекулы, поэтому по обе стороны мембраны должны создаваться одинаковые концентрации нейтральных молекул, но разные концентрации ионов). Уодделл и Батлер предпочитали пользоваться неокрашенными индикаторами, с низким молекулярным весом, для того чтобы избежать явлений, связанных с абсорбцией и самоабсорбцией. В конце концов они остановились на 5,5-диметил-2,4-оксазолидиндионе — слабой кислоте,  $pK_a$  которой при температуре 37° составляет 6,13. Используя этот индикатор, они обнаружили, что pH внутри мышцы в состоянии покоя у собаки составляет 7,04, но вдыхание двуокиси углерода снижает его

до 6.6. Применяя радиоактивную форму этого индикатора, Аддавки [12] определил, что рН внутри митохондрии в состоянии покоя равняется 7.74.

При помощи индикаторной методики удалось установить, что рН цитоплазмы животных и растительных клеток составляет  $6.8 \pm 0.2$  и что в обоих случаях цитоплазма хорошо забуферена. Нуклеоплазма имеет рН  $7.6 \pm 0.2$  [304]. Внешняя поверхность органелл в том случае, если она имеет анионный характер (например, белковые поверхности), может содержать больше водородных ионов, чем цитоплазма, из-за эффекта дзета-потенциала. Цитоплазма амёб имеет рН 6.7; рН растительных вакуолей в среднем составляет 5.2, хотя у некоторых видов рН гораздо ниже. рН злокачественных тканей у млекопитающих ниже, чем рН остальной ткани, причем при введении глюкозы рН может снизиться до 6.3—6.4 без изменения рН окружающих тканей пораженного органа. Столь низкое значение рН связано с высокой скоростью анаэробного дыхания; в связи с этим теперь с гораздо большей тщательностью подходят к выбору значений  $pK_a$  при создании новых канцеростатических средств типа азотистых пиритов [1228].

Значение рН внутри бактериальных клеток может, по-видимому, изменяться с изменением рН буферных сред, в которых эти клетки находятся. Это подтверждает следующий эксперимент. Известно, что тирозиндекарбоксилаза *Streptococcus faecalis* обладает максимальной активностью *in vitro* при рН 5.5. В интактной бактериальной клетке активность этого фермента весьма невелика, при условии, что рН окружающей среды 7 или выше, однако активность сильно возрастает, если бактерии поместить в буфер с рН 5—5.5 [555]. Было также обнаружено, что между рН внеклеточной и внутриклеточной жидкости (на ткани желудочка сердца черепахи) в пределах от 6.5 до 9.5 существует линейная зависимость:  $pH_{\text{вн.}} = pH_{\text{нар.}} + 2.98$  [1476]. Дополнительные данные о рН клеток см. в работе [177].

При проведении фармакологических исследований желательно применять буферные растворы, даже если известно, что рецептор находится внутри клетки. Присутствие буфера полезно, так как он создает однородные условия благодаря тому, что: 1) лекарственный препарат поступает в клетку в стандартном состоянии ионизации независимо от того, в какой форме он был до того; 2) стандартизируются условия адсорбции лекарственного средства на поверхности клетки и его проникновения в клетку.

Успех от применения буферов зависит от количества клеток, с которыми буферы вступают в контакт. В объемных культурах тканей это количество может быть очень мало, и лекарственный препарат достигает далеких от поверхности клеток только после того, как проходит через другие клетки или через внеклеточную жидкость. Поэтому результаты, полученные в таких экспериментах, нельзя сравнивать с результатами опытов, в которых все клетки находятся в непосредственном контакте с лекарственным препаратом при известном рН [1327].

## 7. Заключение

Из всего того, о чем мы говорили в этой главе, становится совершенно очевидным, насколько важно знать константы ионизации при изучении действия биологически активных веществ. Далее необходимо установить, в какой форме эти вещества более эффективны — в форме ионов или нейтральных молекул. Это можно определить двумя методами, которые отнюдь не исключают, а, напротив, дополняют друг друга. Первый метод заключается в изменении  $pK_a$  лекарственного препарата посредством введения соответствующих заместителей; здесь к услугам исследователя умение химиков (приобретенное ими сравнительно недавно) синтезировать вещества с заданным значением  $pK_a$ , относящиеся почти ко всем классам соединений. Преимущество этого метода состоит в том, что ионизация рецептора остается неизменной и клетки

подвергаются испытанию при оптимальном для них рН. Недостатком же метода является то, что химические изменения в молекуле могут быть сами по себе ответственными за изменившуюся биологическую реакцию. Эту трудность можно преодолеть, проводя эксперимент с *двумя* аналогами, имеющими одно и то же заданное значение  $pK_a$ ; при этом результат «засчитывается» только в том случае, когда имеет место совпадение в обоих опытах. Второй метод состоит в том, что строение лекарственного препарата остается неизменным, но меняется рН среды. Этот метод имеет то преимущество, что живые клетки подвергаются действию только одного лекарственного вещества, однако здесь необходимо отдельно проверить влияние рН среды на рецептор и на жизнеспособность клетки.

Оба метода дают возможность контролировать степень ионизации, и поэтому их использование может многое добавить к информации, получаемой в результате биологических экспериментов, и помочь при планировании дальнейших, более широких исследований.

### Введение

Тяжелые металлы необходимы для всех форм жизни, правда, лишь в ничтожных количествах. Они проникают в живую клетку в виде катионов, и поглощение их строго регулируется, поскольку многие тяжелые металлы в больших количествах токсичны.

Необходимо отметить замечательную особенность, заключающуюся в том, что лишь в крайне редких случаях избыток какого-нибудь жизненно важного металла может восполнить ущерб, вызванный недостатком другого. Наоборот, избыток этот часто только усугубляет вред, обусловленный такого рода недостаточностью.

Зачастую вещества, способные связываться с металлами, образуют с ними хелатные соединения. К этому классу хелатообразующих соединений принадлежат многие эффективные лекарственные средства и другие вещества, играющие важную роль в явлениях, связанных с избирательной токсичностью. Они производятся в огромных количествах, особенно те из них, которые находят применение в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов. Их функция состоит в нарушении неустойчивого баланса тяжелых металлов-микроэлементов. Некоторые из таких веществ вытесняют тяжелые металлы из живых тканей, но большинство резко усиливает присущую тяжелым металлам токсичность.

Помимо использования в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов металлсвязывающие вещества применяются в медицине и ветеринарии. Здесь они находят самое разнообразное применение. Некоторые из них действуют различно на позвоночных и их паразитов и применяются для борьбы с патогенными грибами, бактериями, а также (со сравнительно недавнего времени) вирусами (см. ниже, разд. 7 и 8). Вторую группу веществ используют как антитоды, поскольку они способны дифференцировать жизненно важные и токсичные для организма металлы (см. ниже, разд. 6). Третью группу веществ, по-разному ведущих себя в нормальных и патологических процессах, используют в качестве лекарственных средств, например, при различных формах ревматизма, а также при сердечно-сосудистых заболеваниях и раке (см. ниже, разд. 8 и 9).

### 1. Металлы в живой клетке

Высшие животные и растения нуждаются в следующих металлах (в виде катионов) (большинство из них необходимо также для бактерий и грибов и, по всей видимости, вообще для всех живых клеток):

- а) тяжелые металлы: медь, железо, марганец, молибден, кобальт и цинк;
- б) легкие металлы (обычно они встречаются чаще и в большем количестве): кальций, магний, натрий и калий.

Имеются также данные о том, что в группу «а» можно включить и другие металлы, а именно, алюминий, кадмий, хром и ванадий. Ниже приведены примеры биологического действия тяжелых металлов.

**Кобальт.** Катион кобальта служит кофактором карбоксипептидазы — фермента, разлагающего различные *кинины* (циркулирующие в крови млекопитающих пептиды, которые способны вызывать воспалительные процессы) и участвующего в переваривании полипептидов [505].

По-видимому, наиболее важная биохимическая функция кобальта связана с его обязательным присутствием в центре большого тетрапиррольного кольца, образующего ядро *кобамидных коферментов*. В результате расщепления этих коферментов, выделенных из дрожжей или печени, образуются два вещества — оксикобаламин и цианкобаламин (витамин  $B_{12}$ ), — которые используются для заместительной терапии при пернициозной анемии. Один из кобамидных коферментов катализирует восстановление рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды, другой (5'-дезоксиаденозилкобаламин) служит катализатором взаимного превращения анионов  $\beta$ -метиласпаргиновой и глутаминовой кислот [107], а кофермент 5,6-диметилбензимидазолкобаламин способствует взаимному превращению анионов метилмалоната и сукцината [620]. Метилкобаламин катализирует метилирование гомоцистеина в метионин [1575].

В Австралии, Новой Зеландии и некоторых других странах на обширных пастбищах, превосходящих во всех других отношениях, недоставало кобальта, необходимого для синтеза кобаламинов бактериями, обитающими в желудочно-кишечном тракте овец. На таких пастбищах растет хорошая, сочная трава, и овцы охотно ее поедают. Но содержание кобальта в этой траве часто очень низко — менее чем 0.2:1 000 000, т. е. даже ниже той критической концентрации, при которой овцы теряют аппетит; у них развивается анемия и слабость, и в конце концов они погибают от истощения. Было обнаружено, что если содержание кобальта в рубце овцы ниже 40  $\text{мкг}/\text{г}$ , то микрофлора здесь резко изменяется и содержание кобамидов катастрофически падает. Так, обычный уровень синтеза  $B_{12}$ -коферментов, составляющий примерно 1  $\text{мг}$  в день, снижается до 50  $\text{мкг}$  в день и менее. Поскольку эффективность всасывания у овцы составляет всего около 3%, количество этих коферментов, усваиваемых организмом, оказывается недостаточным для того, чтобы восполнить потери, происходящие в процессе нормального метаболизма, и животное погибает [970].

Для лечения пернициозной анемии у человека достаточна суточная доза витамина  $B_{12}$  всего 1  $\text{мкг}$ . Для человека весом 70  $\text{кг}$  это составляет  $2 \cdot 10^{-10}\%$  веса тела.

**Медь.** Медь — необходимая составная часть многих ферментов; она непосредственно связана с белком. Типичным медьсодержащим ферментом является полифенолоксидаза (тирозиназа), играющая важную роль в метаболизме членистоногих и растений, а также в метаболизме пигментных клеток млекопитающих. Среди других медьсодержащих ферментов можно назвать аскорбатоксидазу, лакказу и цитохромоксидазу. Валентность связанных металлов можно определить по спектрам электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Таким образом было доказано, что медь в лакказе в исходном состоянии двухвалентна, но когда фермент вступает во взаимодействие со своим субстратом, она переходит в одновалентное состояние ( $\text{Cu}^+$ ). Тем же методом удалось определить, что в медьсодержащем белке крови млекопитающих (церулоплазмине) встречается и двухвалентная, и одновалентная медь.

Медь, входящая в состав дыхательного пигмента некоторых моллюсков и ракообразных, выполняет здесь ту же роль, которую играет железо в дыхательных пигментах высших организмов. Этот синий пигмент, называемый гемоцианином, не содержит порфирина [570]. Известно, что медь и марганец необходимы для биосинтеза хлорофилла. Известно также, что медь (а возможно, и марганец) необходима для образования гемоглобина у человека.

На фиг. 51 видно, как добавление следовых количеств меди влияет



на рост овса, выращиваемого в среде с недостатком меди. Совершенно очевидно, что как недостаток, так и избыток меди равно вредны для растений. Недостаток меди оказался причиной многочисленных неурожаев на культурных участках земли в Голландии и Дании. Недостаток меди в организме приводит к развитию анемии, демиелинизации спинного мозга и утрате пигментации, как это наблюдается при энзоотической атаксии ягнят в западной Австралии [153]. С другой стороны, избыточное накопление меди в печени овец приводит к гемолизу и гибели животных [53].

**Железо.** Железо является важнейшей составной частью порфириновых ферментов (каталазы, пероксидазы и разнообразных цитохромных систем), необходимых для всех живых клеток. Другими важными железосодержащими соединениями в организме млекопитающих являются переносчики кислорода — гемоглобин и миоглобин, ферритин, транспортирующий железо из кишечника в другие ткани, и трансферрин, связывающий ионы двухвалентного железа (которое крайне токсично), тем самым снижая их концентрацию в крови. Трансферрин, так же как и аналогичный ему  $\beta$ -глобулин яиц (кональбумин), способен настолько понизить концентрацию ионов двухвалентного железа в питательной среде, что в ней прекращается рост бактерий [1262]. Гемоглобин — дыхательный пигмент, содержащийся не только в клетках млекопитающих, но и у птиц, пресмыкающихся, земноводных и рыб. У некоторых моллюсков и кольчатых червей он был также обнаружен, но не в эритроцитах, как у позвоночных, а в плазме. У некоторых других видов кольчатых червей имеется железосодержащий дыхательный пигмент зеленого цвета — хлорокруорин.

Железо является также важнейшей составной частью многих непорфириновых ферментов, например аконитазы, альдолазы и фумаратгидрогеназы. Торможение синтеза глюкозы триптофаном в клетках животных зависит от образования хелатных связей. Триптофан в процессе метаболизма превращается в пиридин-2,3-дикарбоновую кислоту, которая образует с двухвалентным железом комплекс, необходимый для действия фермента фосфоенолпируваткарбоксикиназы (ключевого фермента глюконеогенеза, т. е. образования глюкозы, например из аминокислот) [1458].

Недостаточность железа приводит к низким урожаям фруктов (например, цитрусовых и яблок). При этом содержание железа в почве может быть высоким, но из-за высокой щелочности всасывание металла корнями будет подавлено. При опрыскивании такой почвы этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) образуется растворимый феррикомплекс ЭДТА, всасываемый корнями деревьев. Эксперименты с растениями томатов, выращенными на среде, к которой был добавлен комплекс железа с ЭДТА, содержащий меченые атомы  $Fe^{59}$  и  $C^{14}$  (в положении 2 ацетатной группы комплекса), показали, что растение всасывает и транспортирует интактный комплекс, затем органическая часть комплекса разрушается в процессе метаболизма, а неорганическая, т. е. железо, остается [680]. Если почва бедна железом, то превосходные результаты дает разбрызгивание раствора ЭДТА-трехвалентного железа.

Ферредоксин — соединение, играющее важную роль в фотосинтезе, и сидерамины, которые содержатся и в растениях и в бактериях, будут описаны в разд. 2. У многих видов бактерий избыток железа в питательной среде тормозит образование токсинов [677].

**Марганец.** Несмотря на то что марганец имеет переменную валентность, он, по-видимому, не принимает участия в реакциях окисления, протекающих в биологических системах. Марганец необходим для активации многих ферментов расщепления, например оксалоацетатдекарбоксилазы, аргиназы, пролидазы, а также ряда ферментов, катализирующих реакции переноса объемистых групп, например остатков сахара (см. об этом также выше, в разд. *Медь* и ниже, в разд. *Антагонизм катионов*).

Марганец, по-видимому, служит незаменимым компонентом на той стадии реакции Хилла (эта реакция протекает в хлоропластах растений), на которой происходит отщепление гидроксильного иона, сопровождающееся выделением молекулярного кислорода в процессе фотосинтеза [1155].

**Молибден.** Молибден служит важнейшей составной частью некоторых ферментов, катализирующих реакции окисления и восстановления, например нитратредуктазы у грибов, ксантин- и альдегидоксидазы в молоке, печени и кишечнике млекопитающих. В этих ферментах, как полагают, происходит изменение валентности  $\text{Mo}^{+5} \rightleftharpoons \text{Mo}^{+6}$  [1053]. Молибден необходим для фиксации азота многими видами *Rhizobium*, обитающими в клубеньках растений.

**Цинк.** Цинк — незаменимый компонент карбоангидразы, которая ускоряет превращение угольной кислоты в двуокись углерода, в естественных условиях протекающее медленно. В отсутствие карбоангидразы у млекопитающих и птиц невозможен нормальный дыхательный обмен. Важными цинксодержащими ферментами являются также некоторые карбоксипептидазы, лактатдегидрогеназа и алкогольдегидрогеназа дрожжей.

Недостаток цинка вызывает тяжелые заболевания яблони, ореха, цитрусовых и виноградной лозы. Отсутствие цинка в почве служит причиной неурожая зерновых в некоторых местностях. В 30-х гг. XX в. 90-мильная равнина (Найнти-Майл-Плейн) в Южной Австралии, поросшая редким кустарником, была превращена регулярным опрыскиванием раствором цинковых солей с воздуха в пышные пастбища, покрытые сочной травой, на которых теперь пасутся большие стада овец.

Цинк, содержащийся в оболочке бактериальных клеток, как полагают, гидролизует тирозины, из которых состоит «пробка», закупоривающая канал хвоста фага, и тем самым он способствует заражению [846].

**Другие тяжелые металлы.** Низшие хордовые животные, которые на филогенетическом древе непосредственно предшествуют позвоночным, накапливают ванадий, который у них, по-видимому, входит в состав кислород-переносящего пигмента крови, играя здесь ту же роль, что и железо в гемоглобине. Многие исследователи считают, что ванадий участвует в синтезе стероидов у млекопитающих. Белок, содержащий кадмий, обнаружен в корковом слое почек у лошадей [966]. Хром, возможно, связан с секрецией инсулина [1294].

**Другие металлы**<sup>1</sup>. Из легких двухвалентных металлов самым распространенным у большинства живых организмов (но не у бактерий) является кальций. В больших количествах он содержится в зубах, костях, раковинах, в виде кристаллов оксалата (у растений). У млекопитающих уровень циркулирующего в крови кальция регулируется тиреоидным и паратиреоидным гормонами. Одна из наиболее важных функций кальция — регуляция проницаемости полупроницаемых мембран, которые при наличии кальция сохраняют свою целостность, а в его отсутствие становятся пористыми и легко проницаемыми. Такая регуляция определяется, вероятно, большой распространенностью кальция, его двухвалентным характером и наличием в мембранах фосфат-анионов.

Кальций обладает и более специфичным действием — он регулирует возбудимость мембран нервных клеток [1303]. Возможно, нервный импульс способствует вытеснению ионов кальция из мембраны, в результате чего она становится более пористой. Так или иначе, но под влиянием кальция каким-то образом высвобождается определенное количество медиатора (обычно,

<sup>1</sup> **Неметаллы.** К неметаллическим микроэлементам принадлежат бор (у растений), иод и фтор (у млекопитающих). К этой группе можно присоединить также селен, который предотвращает множественный некроз у мышей, беломышечную дистрофию у норки, экссудативный диатез у кур и индюшек, низкий привес у овец и дистрофию печени у свиней.

ацетилхолина) как в нервно-мышечном соединении, так и в нервных синапсах [997]. Ионы кальция играют весьма важную роль в функционировании мышц позвоночных. Выделение ацетилхолина, сопровождающее каждый нервный импульс, обуславливает высвобождение ионов кальция из его депо в мышцах, а это может иметь разнообразные последствия. Прежде всего может повыситься пористость наружной мембраны, что стимулирует транспорт ионов натрия. Кроме того, кальций стимулирует аденозинтрифосфатазу (активируемую магнием) в мышцах млекопитающих, способствуя, таким образом, высвобождению накопленной энергии. Было высказано предположение, что ионы кальция адсорбируются на молекулах актина, которые при этом приобретают положительный заряд и притягивают отрицательно заряженные «палочки» миозина. Возможно, в этом именно и состоит цитохимия мышечного сокращения [748].

Кальций ингибирует аденозинтрифосфатазную активность некоторых мембран (в корковом слое почек и в эритроцитах), конкурируя с АДФ-Mg — природным субстратом аденозинтрифосфатазы этих мембран [482], а возможно также и мышц насекомых.

Был обнаружен необычный пример использования кальция у одного организма, относящегося к моллюскам. В то время как генерирование потенциала действия в мышце у земноводных и млекопитающих сопровождается кратковременным повышением проницаемости для ионов натрия, у этого моллюска генерирование потенциала в мышце связано с увеличением проницаемости для ионов кальция (потенциал покоя восстанавливается в обоих случаях с помощью ионов калия). Тетродотоксин, подавляющий проницаемость различных тканей для ионов натрия, на проникновение ионов кальция у этого моллюска не влияет. Однако оно может быть подавлено ионами марганца [630].

Магний часто служит кофактором для ферментов, катализирующих гидролиз и перенос объемистых групп. Его влияние на аденозинтрифосфатазу упоминалось выше. Магний является незаменимым фактором, обуславливающим целостность рибосом; далее, он необходим для соединения тРНК с рибосомами. У бактерий из всех двухвалентных металлов магний содержится в наибольшем количестве. Содержание магния в грамположительных бактериальных клетках гораздо выше, чем в клетках грамотрицательных микроорганизмов [1240]. Магний — это ключевой компонент хлорофилла, занимающий центральное положение в его молекуле. Магний и кальций содержатся вместе в срединной пластинке оболочки растительных клеток.

Калий — важнейший внутриклеточный ион у всех живых организмов, тогда как натрия в клетках содержится мало. Он появляется внутри клетки только в момент возбуждения. Наземные растения всегда содержат очень мало натрия.

В гл. 4, разд. 3, мы рассматривали роль ионов натрия и калия в проведении нервного импульса. То, что даже одновалентные ионы могут находиться в связанном состоянии, — факт отнюдь не общезвестный. Так, в живых тканях животных часть ионов  $\text{Na}^+$  находится в осмотически неактивной форме.  $\text{Na}^+$  удерживается полимерами, повторяющиеся звенья которых имеют по крайней мере одну кислотную группу (примеры: нуклеиновые кислоты, мукополисахариды). Связанные ионы натрия могут мгновенно вытесняться ионами, имеющими более высокую валентность, и возросшая концентрация натрия может быть измерена с помощью натрийчувствительного электрода [1087].

В последнее время было обнаружено много агентов, изменяющих проницаемость мембран для этих ионов. Тетродотоксин (4.4) снижает проницаемость для ионов натрия, сукцинилперимидин — для ионов калия (гл. 12, разд. 2), а валгнумин способствует поглощению калия [1019]. Тетрафенилборат натрия ( $\text{NaBPh}_4$ ), образуя комплекс с ионами калия, позволяет дис-

пергировать ткани на отдельные клетки [1477]. В гл. 4, разд. 6, б, приведены данные в пользу того, что местноанестезирующие средства действуют в нервных волокнах как антагонисты ионов натрия.

**Литий** в норме не является компонентом клетки, но в отличие от всех остальных известных ионов он может выполнять функцию натрия при проведении нервного импульса, действуя, правда, с меньшей эффективностью. Литий проходит через изолированную кожу лягушки с помощью механизма, предназначенного для переноса натрия [1279]. Успешное применение лития в медицине главным образом для лечения хронических психозов, по-видимому, основано на том, что литий вытесняет другой одновалентный катион [1280].

**Антагонизм катионов.** Многие болезни растений и животных могут быть вызваны нарушением баланса металлов. У растений сои, обработанных избытком марганца, быстро развиваются признаки недостаточности железа, которые могут быть легко устранены добавлением соответствующего количества железа. Если, наоборот, растения сои произрастают на почве с чрезмерно высоким содержанием железа, то у них появляются симптомы недостаточности марганца [1354]. В Англии среди ягнят распространена болезнь «изогнутая спина» (энзоотическая атаксия), приносящая большие убытки. Это заболевание связано с повышенным содержанием в траве цинка или свинца и излечивается добавлением в пищу меди. На других пастбищах, богатых молибденом, у овец появляются симптомы недостаточности меди, это заболевание также излечивается после добавления в пищу меди [514]. Избыток цинка в пище вызывает у крыс анемию, исчезающую при добавлении в рацион меди [1346]. Чтобы предотвратить заболевание, возникающее от недостатка меди в почве, в Голландии при вспашке почву обрабатывали медью. В результате на этих участках вырастала трава с заметным недостатком марганца, хотя содержание его в почве было нормальным. Эти виды антагонизма напоминают простой антагонизм ионов (кальций против калия), лежащий, как показал в 1880 г. Рингер, в основе регуляции сердечной деятельности. Подобного же рода антагонизм между магнием и кальцием связан с процессом сокращения мышц. У млекопитающих кальций и магний всасываются в кишечнике и проходят в организме один и тот же биохимический путь, и если в пище недостает магния, то всасывается больше кальция и наоборот [54].

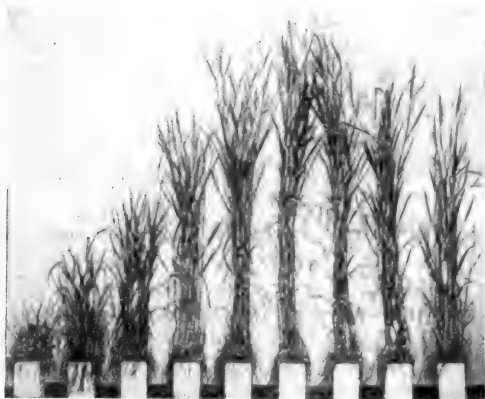
Некоторым бактериям (*Lactobacillus casei* и *Streptococcus faecalis*) вредит присутствие следов ионов натрия и аммония, но только в том случае, если они были выращены в среде с недостатком калия. Эти бактерии способны в то же время вместо калия использовать рубидий [950]. Прежде существовала тенденция добавлять в пищу животным избыток кальция, однако этим нарушалось нормальное усвоение цинка. Если для предотвращения этого эффекта добавляли цинк, то у животных нарушалось нормальное усвоение меди. И наоборот, избыточное поглощение меди приводило к удалению из печени цинка. Наконец, слишком высокая концентрация молибдена в пище мешает животным усваивать кобальт, необходимый для синтеза витамина  $B_{12}$  [403].

Многие примеры подобного антагонизма катионов представляют собой как бы неорганический эквивалент взаимоотношений метаболитов и антиметаболитов (гл. 6).

**Двуфазный эффект.** Как известно, токсическое действие тяжелых металлов на организм имеет как бы две фазы. Если организм получает слишком мало тяжелых металлов, ему наносится значительный ущерб. Это объясняется тем, что в организме содержится множество ферментов, которые не могут функционировать в отсутствие соответствующих металлов хотя бы в следовых количествах. Однако, если организм получает металла слишком много, то наступает вторая фаза, связанная с токсическим действием избыточного

количества металла. Этот «двухфазный» эффект можно проиллюстрировать на примере действия меди на рост овса [1144].

На фиг. 51 показано, что избыток меди так же вреден, как и ее недостаток. Овес высевали в ряд сосудов, в которых концентрация меди изменялась от 0 до 3000  $\text{мкг/л}$ ; высота растений максимальна в сосуде, содержащем 500  $\text{мкг/л}$ , а во всех остальных сосудах высота растений овса ниже. Когда мы говорим, что использовались концентрации от 0 до 3000  $\text{мкг/л}$ , это не совсем точно: полностью освободить среду от следов металла практически невоз-



Фиг. 51. Влияние меди на рост овса.

Содержание меди в питательной среде в  $\text{мкг/л}$  (слева направо): 0; 3; 6; 10; 20; 100; 500; 2000; 3000.

можно. Поэтому мы не можем говорить о среде, не содержащей металлов, а речь может идти лишь о среде, обедненной тем или иным металлом.

**Обедненные среды.** Тем, кто только начинает изучать микроэлементы, иногда кажется странным, что, прежде чем приступить к эксперименту, приходится очищать среды от металлов. Дело в том, что «химически чистые» и «чистые для анализа» реактивы, к сожалению, содержат очень много примесей тяжелых металлов. Это неизбежно, так как вещество, очищенное на 99,99%, все еще содержит  $6 \cdot 10^{17}$  молекул посторонних примесей на каждый грамм. Эта цифра рассчитана с помощью числа Авогадро ( $6 \cdot 10^{23}$  молекул в 1 моле любого вещества) — при расчете средний М. в. принимался равным 100. На самом деле реактивы «ч. д. а.» не содержат 99,99% чистого вещества. Содержание металлов в бактериологических средах довольно велико. Например, в пептоне восьми сортов с помощью искрового спектрографа было обнаружено (в частях на миллион) от 3 до 940 частей меди, от 20 до  $>300$  частей железа, от  $<0,03$  до 15 частей кобальта, от 0,1 до 6 частей молибдена, от 2 до  $>300$  частей ванадия, от 0,1 до  $>400$  частей алюминия, от 0,6 до 9 частей марганца, до 300 частей цинка и несколько процентов кальция, магния, натрия и калия (вместе). Другой типичный случай загрязнения реактивов примесями металлов был выявлен при проведении эксперимента с жгутиковой водорослью *Euglena gracilis*. Для образования новой клетки этого организма ему требуется всего 4800 атомов ( $5 \cdot 10^{-19}$  г) кобальта. В пред-

варительном опыте было обнаружено, что «чистая для анализа» соль железа, применявшаяся для приготовления культуральной среды, содержала кобальта в тридцать три раза больше [739].

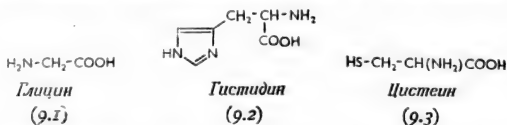
Пайпер предложил следующий удобный метод получения сред с незначительным содержанием металлов: питательные соли растворяют в воде, этот раствор несколько раз встряхивают с раствором дитизона в хлороформе, после чего раствор экстрагируют хлороформом (для удаления дитизона) и наконец пропускают воздух (для удаления хлороформа). Кроме дитизона для удаления металлов из бактериологических сред применялись и другие вещества, обладающие высоким сродством к металлам, например 8-оксихинолин [1242, 1492]. К сожалению, выбор веществ для этой цели ограничен, так как известно очень мало соединений, обладающих высоким сродством к металлам, причем многие из них, например этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), нерастворимы в несмешивающихся с водой растворителях. Дональд [439] описывает 38 способов удаления металлов из питательных сред.

## 2. Биохимические различия, способствующие избирательности

Сравнительную биохимию связывания металлов лучше всего изучать, исходя из общих закономерностей реакций связывания, характерных для любых клеток.

В каждой клетке имеет место конкуренция между многочисленными природными металлосвязывающими соединениями за следы тяжелых металлов. Из них в первую очередь заслуживают внимания аминокислоты. В табл. 33 приведены константы устойчивости<sup>1</sup> комплексов глицина (9.1) с разными распространенными металлами. Большинство аминокислот имеет константы, мало отличающиеся от приведенных в таблице [23, 24]. Необычно высокой способностью связывать металлы обладают две обычные аминокислоты, а именно гистидин (9.2) — благодаря наличию в его молекуле имидазольного кольца, и цистеин (9.3) — за счет своей сульфгидрильной группы [24]. Предполагается, что металлы связаны с белком главным образом через остатки гистидина и цистеина (и, возможно, лизина) [619, 1408]. На рентгенограммах гемоглобина видно, что между железом и атомом азота имидазольного кольца гистидина имеется прочная связь. Пептиды и белки обладают меньшим сродством к металлам, чем аминокислоты, потому что —CONH-группа почти не ионизируется [397, 433] и металл обычно находится между этой группой и концевой NH<sub>2</sub>-группой.

По вопросу о том, каким именно образом функционируют металлы в тех ферментах, которые в них нуждаются, практически ничего неизвестно, хотя на этот счет и существует множество предположений [957]. Такие ферменты обычно обнаруживают специфическое сродство к определенному металлу,



но некоторые (немногие) из них оказываются гораздо активнее, будучи соединенными с теми металлами, сродство к которым у них не слишком велико (например, магний в альдолазе).

<sup>1</sup> Определение этого термина дается в разд. 3 настоящей главы; чем выше константа устойчивости, тем прочнее связывание.

Согласно одной из весьма широко распространенных гипотез, металлы служат мостиком между субстратом и белком, который, по-видимому, активирует металл, отнимая у него электроны. При этом металл приобретает избыточный положительный заряд, вследствие чего отнимает электроны у молекулы субстрата, вызывая в ней химические изменения. Таким образом, уменьшение свободной энергии активации объясняют электронной деформацией молекул субстрата, вызванной металлом [1342]. При исследовании методом электронного парамагнитного резонанса двух марганецсодержащих ферментов — креатинкиназы и мышечной енолазы — было показано, что у первого из них марганец связан с коферментом (аденозиндифосфатом) и с субстратом, но не с белком, а у второго атом марганца, по-видимому, служит мостиком между субстратом и белком [333].

В других случаях единственная роль металла состоит в том, чтобы обеспечить нормальное свертывание молекул белков с образованием третичной структуры. За счет этого свертывания два или три аминокислотных остатка, которые в вытянутой полипептидной цепи находятся далеко друг от друга, сближаются и образуют вместе активный участок.

Немногом менее 10% всех известных ферментов нуждаются в металлосодержащих кофакторах [345].

Многие ферменты (например, трипсин) функционируют без помощи металла, однако те ферменты, которым металлы нужны, обычно удерживают их очень прочно, так что во многих случаях металл не удается удалить диализом и даже сильные хелатообразующие агенты, проникая в клетки микроорганизмов, не причиняют им вреда (см. ниже, разд. 7, а).

Существует много других связывающих металлы соединений, играющих важную роль во всех живых клетках. К ним прежде всего относятся птеридины (в том числе фолиевая кислота) и пурины, для которых были определены константы устойчивости [25, 51], а также рибофлавин, который обладает наибольшим родством к металлу в частично восстановленном состоянии [668]. В числе широко распространенных веществ, связывающих металлы, можно назвать спермин (9.4) и более простые диамины, например спермидин и кадаверин.



*Спермин*  
(9.4)

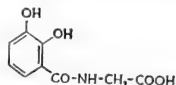
Все виды фосфатов способны связывать металлы в живых клетках. С большой точностью были определены константы устойчивости комплексов аденозинтрифосфата с  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  [1125]. Были также определены и описаны комплексы пирофосфатного аниона и пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов с металлами [194, 1511]. Измерены константы связывания нуклеиновых кислот с магнием, кальцием и марганцем [1532]. Было показано, что нуклеиновые кислоты в природных соединениях связаны с тяжелыми металлами, которые, возможно, способствуют стабилизации спирали Крика — Уотсона [1472]. Кислоты цикла лимонной кислоты связывают катионы металлов, но константы определены лишь для немногих из этих соединений [1284].

Насколько известно, константы устойчивости большинства перечисленных веществ по своим величинам близки к константам устойчивости аминокислот (табл. 33). Вероятно, только у порфиринов константы имеют более высокие значения; порфирины настолько прочно удерживают железо, что не удалось обнаружить никаких признаков обмена с радиоактивным железом [632].

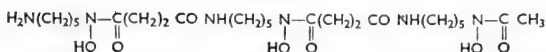
Из всего вышесказанного ясно, что опыты с микроэлементами нельзя проводить в присутствии фосфатного или цитратного буферов. Для pH

в пределах 7—8,2 удобным буфером, не образующим хелатных связей, служит N-этилморфолин (т. кип. 138—139°).

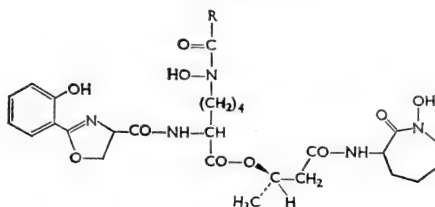
**Хелатообразующие соединения, специфичные для разных организмов.** Исследования в области сравнительной биохимии постоянно выявляют все новые видовые различия в связывании и использовании металлов, о чем частично упоминалось выше, в разд. 1. Имеются также сообщения о существовании видовых различий в способности ферментов связываться с металлами. Так, например, алкогольоксидаза млекопитающих не имеет свободных тиольных групп, которые были обнаружены в алкогольоксидазе дрожжей; поэтому ртутьорганические соединения ингибируют последнюю, но не первую из них [117]. Кристаллическая альдолаза дрожжей активируется железом [1487]; кристаллическая альдолаза млекопитающих не зависит от железа [1413].



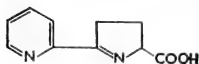
*Итвовая кислота*  
(9.5)



*Ферриоксамин В*  
(9.6)



*Микобактин Т*  
(9.7)



*Пиримин*  
(9.8)

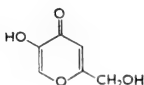
Подобные качественные видовые различия редки [430], гораздо чаще встречаются количественные различия. Так, фермент, необходимый для одного вида животных, может отсутствовать у другого вида. Количественные различия<sup>1</sup> такого рода имеют место даже в различных тканях одного и того

<sup>1</sup> Теперь известно, что количественные различия для одних и тех же ферментов, выделенных из разных тканей организма или из гомологичных тканей организмов разных видов, обусловлены (главным образом или исключительно) различным изоферментным спектром этих ферментов. Подробности об изоферментных спектрах суммированы в монографии Уилкинсона Дж. «Изоферменты», изд-во «Мир», М., 1968, и в обзоре Яковлевой В. И. под тем же названием, опубликованном в сб. «Успехи биологической химии», т. 9, 55—94; изд-во «Наука», М., 1968.— *Прим. ред.*



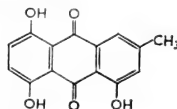
же организма. Например, аконитаза (фермент, нуждающийся в железе) находится в гораздо большем количестве в сердечной мышце, чем в скелетной, а для альдолазы (которая, по-видимому, нуждается в цинке) наблюдается обратное соотношение.

Микроорганизмы, как полагают, предотвращают недостаточность минеральных веществ при помощи хелатообразующих соединений, которые связывают и депонируют несходимые металлы. У бактерий обнаружено много таких веществ, которых нет у других организмов. Одно из них — итеевая кислота (9.5), т. е. 2,3-диоксибензоилглицин [758]. Это соединение обладает способностью связывать  $\text{Fe}^{3+}$  и представляет собой фактор роста для *Bacillus subtilis*. У бактерий цитохромы частично заменены сидераминами<sup>1</sup>; эти соединения имеют крупные молекулы, обычно связывающие ионы трехвалентного железа с помощью гидроксиламиногрупп.



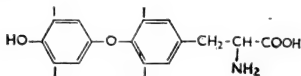
Койевая кислота

(9.9)



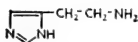
Гельминтоспорин

(9.10)



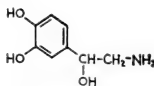
Тироксин

(9.11)



Гистамин

(9.12)



Норадреналин

(9.13)

Ферриоксамин В (9.6), который по строению несколько напоминает нейлон, представляет собой типичный сидерамин; он выделен из *Streptomyces pilosus* [171]. Другой сидерамин, микобактин Т (9.7)<sup>2</sup>, встречается у возбудителей туберкулеза у людей. Он служит фактором роста только для видов рода *Mycobacterium* [1349]. Пиримин (9.8) (L-5(2-пиридил)-Δ'-пирролин-5-карбоновая кислота) выделен из *Pseudomonas*; в отличие от остальных упоминавшихся выше веществ он связывает двухвалентное железо, образуя комплекс пурпурного цвета. Эти различия в метаболизме железа у бактерий и млекопитающих открывают интересные химиотерапевтические возможности. Более подробные сведения о сидераминах см. в гл. 1, разд. 4, ж.

Грибы содержат несколько хелатообразующих соединений совершенно другого характера. Многие из них представляют собой пираны, например койевая кислота (9.9), другие же — 1-оксидантрахиноны [например, соединение (9.10)] [175; 1379]. Высушенный мицелий *Helminthosporium gramineum* содержит 30% полиоксидантрахинонов, в том числе гельминтоспорин. На другом конце эволюционной лестницы, у млекопитающих, встречаются металло-

<sup>1</sup> Константы устойчивости ферриоксаминов см. в работе [67].

<sup>2</sup> В формуле (9.7) R—алкильная цепочка  $\text{C}_{14}$ — $\text{I}_1$ .

держание гормоны, например тироксин (9.11), гистамин (9.12) и норадреналин (9.13). Ионы двухвалентной меди, находящиеся на окончаниях симпатических нервов, возможно, способствуют депонированию катехоламинов (например, норадреналина) [334].

Упомянутые выше сидерамины присутствуют также у высших растений, у которых они, возможно, способствуют транспорту  $\text{Fe}^{3+}$  из корней [1085]. Предполагают, что  $\text{Fe}^{3+}$  в конце концов переходит в  $\text{Fe}^{2+}$ , если создаются условия, способствующие восстановлению.

Ферредоксин — железобелковый комплекс негеминной природы — встречается главным образом у анаэробных бактерий и в хлоропластах зеленых растений, в которых он играет очень важную роль, участвуя в переносе водорода в процессе фотосинтеза (он служит первичным акцептором электронов в фотоактивированной молекуле хлорофилла). У ферредоксина (мол. вес 12 000) чрезвычайно низкий восстановительный потенциал ( $-400 \text{ мв}$ ); в его состав входит некоторое количество серы, чувствительной к кислотам [986]. Была определена полная последовательность аминокислот в бактериальном ферредоксине [1407]. Более подробные сведения о ферредоксине растений см. в работе [817].

### 3. Химизм хелатообразования

Биохимиков, работающих с ферментами, многие из которых обладают специфичностью в отношении определенного металла, часто удивляет то обстоятельство, что среди синтетических металлсвязывающих агентов подобная избирательность встречается чрезвычайно редко. Металлы по своему средству к большинству хелатообразующих агентов располагаются приблизительно в следующем порядке:

$\text{Fe}^{3+}$ , $\text{Hg}^{2+}$	<div>Наибольшее средство</div> <div>↓</div> <div>Наименьшее средство</div>
$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Al}^{3+}$	
$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$	
$\text{Co}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$	
$\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$	
$\text{Mn}^{2+}$	
$\text{Mg}^{2+}$	
$\text{Ca}^{2+}$	

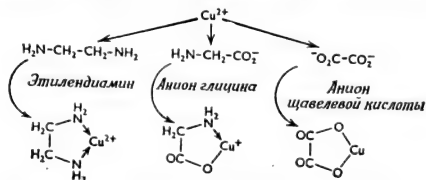
Ирвинг и Уильямс [754] первыми указали на то, что, исходя из общих закономерностей, можно расположить двухвалентные металлы в приведенной выше последовательности. Очень высокое средство двух трехвалентных ионов ( $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Al}^{3+}$ ) можно продемонстрировать только по отношению к лигандам с повышенной хелатообразующей способностью, иначе происходит гидролиз с образованием неорганических гидроокисей [44, 1113]. Положение молибдена, ванадия и одновалентной меди в этом ряду до сих пор не удалось определить.

С точки зрения избирательности особого внимания заслуживают те хелатообразующие соединения, которые не подчиняются общему правилу. Изучение их позволяет уяснить причину различных отклонений и использовать полученные данные для поисков новых вариантов.

Прежде чем перейти к рассмотрению таких исключений из общего правила, полезно обсудить закономерности нормального хелатообразования. Значение тяжелых металлов в биологии обусловлено их способностью образовывать связи, более прочные, нежели обычные ионные; они легко образуют связи, которые являются частично ковалентными. Такие связи характерны для сульфида меди и цианидных комплексов, но с биологической точки зрения более интересны комплексы металлов с органическими соединениями

(лигандами). Когда металл «закрепляется» между любыми двумя атомами N, O или S, образуется хелатное или клешневидное<sup>1</sup> кольцо и металл удерживается прочнее, чем если бы он не входил в такое кольцо.

Некоторые (немногочисленные) лиганды (так называемые *мультидентатные* лиганды, к которым относится, в частности, ЭДТА) образуют с ионом металла более одного хелатного кольца в комплексе состава 1:1. Однако для того, чтобы облегчить усвоение этого вопроса, удобно сначала рассмотреть три основных вида *бидентатных* лигандов, т. е. таких, которые образуют одно кольцо в комплексах состава 1:1. Некоторые бидентатные лиганды (например, этилендиамин и 2,2'-дипиридил) содержат две электронодонорные группы; в этом случае заряд катиона металла при образовании хелатных связей не изменяется. Они могут содержать одну электронодонорную и одну



Фиг. 52. Три основных типа комплексов состава 1 : 1.

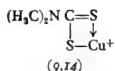
анионную группу (как это характерно для глицина); в этом случае заряд атома металла уменьшается на единицу. И, наконец, лиганд может содержать две анионные группы (например, щавелевая кислота); в этом случае заряд атома металла уменьшается на две единицы. Образование хелатных связей атомами кислорода и азота происходит обычно только в тех случаях, когда при этом получаются пяти- или шестичленные кольца. Пятичленные кольца гораздо устойчивее. Если хелатные связи образуются атомом серы, то возникают устойчивые четырехчленные кольца. На фиг. 52 показаны три основных типа хелатных соединений. Стрелки в кольце показывают направление смещения электронов неподеленной пары от донора (атома O, N или S) к акцептору (металлу).

В присутствии избытка лиганда могут образоваться комплексы состава 2:1. У лигандов типа щавелевой кислоты заряд используется на образование комплексов состава 1:1, которые далее могут соединяться с лигандами типа этилендиамина с образованием смешанного комплекса [1501]. Комплекс состава 1:1, образованный лигандами типа глицина, способен соединяться с другими лигандами того же типа, а комплекс состава 1:1, образованный лигандами типа этилендиамина, может комбинироваться с любым из этих трех типов лигандов. Координационное число двухвалентной меди обычно равно четырем, т. е. полное насыщение наступает при соединении с двумя молекулами лигандов (одинаковыми или разными). Это справедливо также для таких двухвалентных металлов, как кальций, магний и марганец. Однако координационное число двухвалентных железа, кобальта и цинка равно шести для лигандов типа этилендиамина, а у трехвалентных ионов оно равно шести также и для лигандов типа глицина. Располагаясь вокруг металла, лиганды образуют конфигурации, зависящие от направления валентностей катиона металла. Большинство перечисленных выше металлов обычно дает с основными типами лигандов, изображенных на фиг. 52, тетраэдрические

<sup>1</sup> Термин «хелатный» предложен Морганом и Дрюи [1021]. Это слово производится от *chela* — клешня краба (по-английски *ch* произносится как «к», по-русски — «х»).

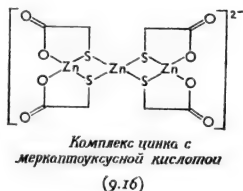
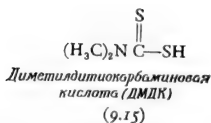
комплексы, но  $\text{Cu}^{2+}$  предпочтительно образует плоские, а  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  — октаэдрические комплексы.

Следует подчеркнуть, что понятие «лиганд» относят только к той части присутствующего в системе органического соединения, которая существует в данных условиях в подходящей ионной форме, способной связывать катион металла. У этилендиамина, глицина и щавелевой кислоты лигандами



служат нейтральные молекулы, моноанионы и дианионы соответственно. Поэтому, если при сравнении относительной реакционной способности лигандов в физиологических условиях пользуются константами устойчивости комплексов, то следует учитывать также и значения  $pK_a$  лигандов.

Сера может входить в простые четырехчленные кольца, как, например, в диметилдитиокарбамате меди(II) (9.14), который образуется из ионов двухвалентной меди и диметилдитиокарбаминовой кислоты (9.15). Если же в образовании комплекса принимают участие атомы кислорода или азота, то предпочтительно возникают пяти- или шестичленные кольца.



Серусодержащие лиганды образуют равновесную смесь многих комплексов. Так, например, цинк и меркаптоуксусная кислота ( $\text{L}^{2-}$ ) образуют ряд:  $\text{ZnL}$ ,  $\text{ZnL}_2^{2-}$ ,  $\text{ZnL}_3^{4-}$ ,  $\text{Zn}_2\text{L}_3^{2-}$ ,  $\text{Zn}_3\text{L}_4^{2-}$ . Последний член этого ряда ( $\text{Zn}_3\text{L}_4^{2-}$ ) наиболее устойчив. Он соответствует формуле (9.16). Сведения об этих соединениях были получены при обработке данных титрования на электронной вычислительной машине. Таким же способом для цистеина ( $\text{L}^{2-}$ ) был рассчитан следующий ряд комплексов с цинком [1122]:



В более кислых растворах присутствуют также протонированные формы комплекса цинк — цистеин [1310]. Совершенно очевидно, что лиганды, содержащие серу, дают более сложные комплексы, чем кислород- и азотсодержащие лиганды, к рассмотрению которых мы сейчас и переходим.

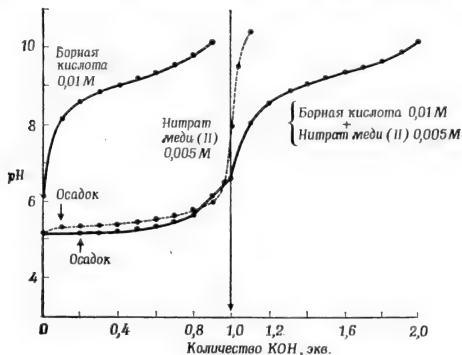
Для оценки прочности связей, варьирующей в широких пределах у различных комплексов, Бьеррум [178] предложил пользоваться константами устойчивости. Эти константы характеризуют равновесие между одним или несколькими лигандами и одним ионом металла, подчиняющееся закону действия масс. Так, например, для комплекса глицина с двухвалентной медью состава 1:1 константа устойчивости ( $K_1$ ) рассчитывается по следующей формуле:

$$K_1 = \frac{[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOCu}^+]}{[\text{Cu}^{2+}][\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COO}^-]},$$

а для комплекса состава 2:1 она будет равна

$$K_2 = \frac{[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOCu}(\text{OOCCH}_2\text{NH}_2)]}{[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOCu}^+][\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COO}^-]}.$$

В каждом случае в числителе находится концентрация комплекса, а в знаменателе — концентрация компонентов, из которых он получен. Для многих целей необходимо знать общую константу устойчивости ( $\beta$ ), которая представляет собой произведение частных констант. Произведение *двух* частных констант обозначают  $\beta_2$ , а произведение *трех* констант —  $\beta_3$ . Константы устойчивости обычно определяют потенциометрическим титрованием лигандов (со стеклянным электродом) в присутствии и в отсутствие металла



Фиг. 53. Пример использования метода потенциометрического титрования для испытания способности вещества к хелатообразованию.

Полученные кривые показывают, что борная кислота неспособна к хелатообразованию (ср. с кривыми, приведенными на фиг. 54).

и сопоставлением полученных результатов посредством сложных расчетов, для упрощения которых часто можно использовать приближенные методы [52].

Этот способ вкратце сводится к следующему. Кислотная группа возможного хелатообразующего агента оттитровывается щелочью, причем значение pH регистрируется после добавления каждой десятой доли эквивалента. Затем титруется смесь (1:1) испытуемого вещества и соли (например, перхлората или нитрата меди). Если комплекс не образовался, то новая кривая последовательно повторяет индивидуальные кривые обоих компонентов (фиг. 53). Если же комплекс образовался, то катионы водорода, выделившиеся в процессе хелатообразования с катионами  $\text{Cu(II)}$ , сдвигают кривую в сторону более низких значений pH (фиг. 54). Вещества, не имеющие кислотного характера, могут быть использованы в форме их солей с кислотами и оттитрованы щелочью.

Потенциометрию можно использовать даже для разбавленных растворов слабо растворимых веществ; например, титрование 0,0001 M раствора аденина в присутствии ионов двухвалентной меди (8 мкM в воде) обычно дает достаточно точную константу [51]. При определении констант веществ, имеющих биологическое значение, нельзя употреблять никаких иных раствори-

телей, кроме воды. Применение смеси воды и органического растворителя (например, диоксана) приводит к неверным результатам [52].

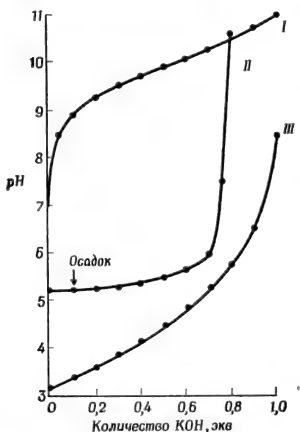
Если объектом исследования служит медь, то при потенциометрическом титровании можно иногда с успехом заменять стеклянный электрод медным [433]. Для особенно труднорастворимых комплексов вместо потенциометрического титрования применяют обменные

методы (два лиганда конкурируют за один металл или, наоборот, два металла за один лиганд; измерения особенно удобно производить в том случае, если один из компонентов содержит изотопную метку [1284]). Спектроскопия [17] находит ограниченное применение, а полярография вообще непригодна.

Первая константа устойчивости ( $K_1$ , см. выше) связана с двумя переменными  $\bar{n}$  и  $L$  следующим уравнением:

$$K_1 = \frac{\bar{n}}{(1-\bar{n})[L]},$$

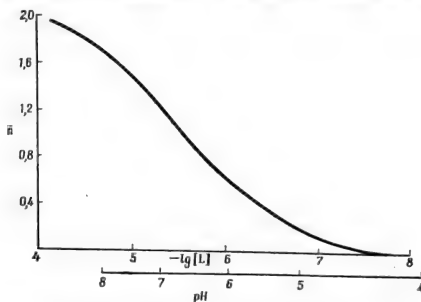
где  $\bar{n}$  — среднее число комплексообразующих молекул, связанных с одним



Фиг. 54. Кривые потенциометрического титрования.

Ясно, что глицин служит активным хелатообразующим агентом. Обозначения кривых: I — глицин (0,01 M); II — нитрат двухвалентной меди (0,005 M); III — глицин (0,01 M) + нитрат двухвалентной меди (0,005 M).

атомом металла, и  $[L]$  — концентрация свободного хелатообразующего лиганда. Величины  $\bar{n}$  и  $[L]$  зависят от константы ионизации лиганда и от pH



Фиг. 55. Кривая образования глицината никеля.

По оси ординат среднее число молекул ( $\bar{n}$ ) глицина, соединенных с одним атомом металла; по оси абсцисс — отрицательный логарифм концентрации свободного к хелатообразованию глицина ( $L$ ).

среды, но каждая из них связана с этими параметрами по-разному. Общий итог выражается в уменьшении связывания металла с повышением кислотности. На фиг. 55 изображена типичная кривая связывания, полученная

путем нанесения значений  $\bar{n}$  в зависимости от  $-\log [L]$ . Можно заметить, как уменьшается  $\bar{n}$  в зависимости от снижения pH. Однако константа устойчивости не зависит от изменения pH, и с помощью приведенного выше уравнения получают одинаковые значения  $K_1$  при значениях  $\bar{n}$  от 0 до 1. Если же  $\bar{n}$  больше 1, то следует использовать соответствующее уравнение для  $K_2$ . (Если  $K_1$  и  $K_2$  отличаются друг от друга меньше чем в 100 раз, то эти уравнения должны быть модифицированы с учетом взаимно мешающих влияний, особенно при значениях  $\bar{n}$  от 0,8 до 1,2.)

Появление электронных вычислительных машин сильно облегчило все эти расчеты. Для расчета констант устойчивости составляются программы на основании данных титрования (обычно щелочью) смеси катиона одного металла и одного или нескольких лигандов. Можно составлять и более сложные программы для электронных вычислительных машин, например при расчете распределения, скажем, пяти катионов между двадцатью лигандами [1123]. Так, в смеси (в равных молярных соотношениях)  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  с этилендиамином, глицином, щавелевой кислотой и глицилглицилглицином, как было обнаружено, большая часть меди связана с этилендиамином, цинка — с глицином, а марганца — с щавелевой кислотой [1120]. Эти расчеты были проделаны путем сравнения данных нескольких титрований, каждое из которых было проведено для одного металла и одного лиганда. Удалось также успешно произвести титрование смесей из одного металла и двух различных лигандов, одновременно присутствующих в растворе [1124, 1127].

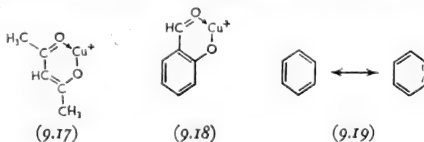
В табл. 33 приведены константы ряда веществ, представляющих интерес для биологов. Другие константы см. в работе [1325].

Константу устойчивости соединения невозможно предсказать точно, прежде чем оно не будет синтезировано и не будут проделаны необходимые измерения: все это требует времени. Однако оказывается возможным предсказать приблизительные величины констант устойчивости, при этом можно руководствоваться следующим принципом: в любом ряду соединений чем прочнее связан лиганд с ионами водорода (что определяется значением pH), тем прочнее он будет связывать металлы [в настоящее время, зная константы индукции, можно предсказать константы ионизации (в виде значений  $pK_a$ ), не прибегая к предварительному синтезу соединений (см. гл. 8, разд. 1)]. Однако следует подчеркнуть, что это правило годится только для *ближних* по строению веществ и оказывается несостоятельным в тех случаях, когда появляются стерические затруднения, вследствие введения объемистых заместителей (см. ниже).

При сравнении веществ, принадлежащих к различным рядам органических соединений, следует учитывать, что чаще всего на соотношение  $pK_a$ :  $\log K$  влияет различие в резонансных эффектах у исходных лигандов и у полученных из них хелатов. Поэтому необходимо выяснить расположение двойных связей в хелатном кольце; факторы, уменьшающие кратный характер двойной связи, обычно уменьшают и устойчивость [283]. Так, например, в комплексном соединении ацетилацетона с медью (9.17) хелатное кольцо содержит две полные двойные связи и поэтому более устойчиво, чем медный комплекс с альдегидом салициловой кислоты (9.18), в котором вследствие резонанса между двумя формами бензольного кольца (9.19) двоевязность одной из двойных связей фактически уменьшена вдвое. Аналогичным образом и у 2-окси-1-нафталяльдегида и 2-окси-3-нафталяльдегида двоевязность углерод — углеродных связей равна 2/3 и 1/3 соответственно. Было обнаружено, что устойчивости их медных комплексов отличаются друг от друга пропорционально этим величинам [283].

Можно надеяться, что предсказанию констант устойчивости будет способствовать развитие теории поля лигандов. Основу этого подхода составляет теория кристаллического поля, которая постулирует, что у тяжелых

металлов пять  $d$ -орбиталей, обычно энергетически равноценных, попадающих в электростатическое поле лиганда, дифференцируются следующим образом:



у  $d$ -орбиталей, направленных в сторону лиганда, энергия возрастает, а у направленных в противоположную сторону снижается. Донорные электроны лигандов отталкивают  $d$ -электроны металла; это отталкивание уменьшается

Таблица 33

**Логарифмы констант устойчивости некоторых комплексообразующих агентов  
(в воде при 20°) <sup>1)</sup>**

Константы приведены в виде  $\log \beta$ . Для экономии места состав комплекса дается в виде стоящего впереди индекса; например, марганец образует с дипиридилом комплекс состава 2 : 1 ( $\log \beta = 6$ ), что обозначается как  $\beta_2$ , а с ЭДТА он дает только один комплекс состава 1 : 1 ( $\log \beta = 13$ ), что обозначается как  $\beta_1$ .

Лиганд	Fe <sup>3+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
Глицин	10	8,5; <sup>215</sup>	6; <sup>211</sup>	5; <sup>29</sup>	5; <sup>29</sup>	4; <sup>28</sup>	3; <sup>25,5</sup>	2; <sup>24</sup>
Цистеин	<sup>2)</sup>	<sup>2)</sup>	10; <sup>219</sup>	10; <sup>218</sup>	<sup>216</sup>	6	4	< <sup>4</sup>
Гистидин	?	10,5; <sup>219</sup>	9; <sup>216</sup>	7; <sup>212</sup>	7; <sup>213</sup>	5; <sup>29</sup>	3,5	< <sup>4</sup>
Гистамин	?	10; <sup>216</sup>	7; <sup>211</sup>	5; <sup>29</sup>	5; <sup>29</sup>	4	?	?
Этилендиамин	?	11; <sup>220</sup> <sup>3)</sup>	8; <sup>218</sup>	6; <sup>212</sup>	6; <sup>214</sup>	4; <sup>29,5</sup>	3; <sup>25</sup>	0,4
Этилендиаминтетра- уксусная кислота (ЭДТА)	<sup>24</sup>	<sup>19</sup>	<sup>18</sup>	<sup>16</sup>	<sup>16</sup>	<sup>14</sup>	<sup>13</sup>	<sup>9</sup>
Птеронилглутамино- вая (фолевая) кислота	?	<sup>28</sup>	<sup>29</sup>	<sup>27,5</sup>	<sup>28</sup>	<sup>28</sup>	<sup>26</sup>	?
Гипоксантин	?	6	5	?	4	4	2	?
Гуанозин	?	6	4	4,5	3	4	3	?
Аденин	?	<sup>214</sup>	4	?	4; <sup>28</sup>	?	?	?
8-Оксихинолин (ок- син)	12; <sup>224</sup> <sup>236</sup>	12; <sup>223</sup>	10; <sup>218</sup>	8,5; <sup>216</sup>	9; <sup>217</sup>	8; <sup>215</sup>	7; <sup>212</sup>	4,5
o-Фенантролин	<sup>214</sup>	<sup>221</sup>	<sup>224</sup>	<sup>217</sup>	<sup>220</sup>	<sup>221</sup>	<sup>210</sup>	?
Дипиридил	?	<sup>217</sup>	<sup>220</sup>	<sup>213</sup>	<sup>216</sup>	<sup>217,5</sup>	<sup>26</sup>	?
Щавелевая кислота	10	6	5,5	5	4,5	4,5	4	3 <sup>4)</sup>
Салициловая кислота	16; <sup>228</sup>	11; <sup>219</sup>	7; <sup>212</sup>	7	7; <sup>211</sup>	6; <sup>211</sup>	6; <sup>210</sup>	?
Тетрациклин	10; <sup>225</sup>	8; <sup>213</sup>	6; <sup>211</sup>	5; <sup>29</sup>	5; <sup>210</sup>	5; <sup>29</sup>	4; <sup>28</sup>	4
Гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид)	?	8	5,5	5	5	?	?	?
Диметилдитиокарба- миновая кислота	?	11; <sup>222</sup>	?	?	?	?	?	?

<sup>1)</sup> Данные для тетрациклина см. [44], изониазида — [26]; салициловой кислоты — [1114], дипиридина и o-фенантролина — [752], диметилдитиокарбаминаевой кислоты — [775], остальные значения — [180].

<sup>2)</sup> Цистеин этим натием окисляется.

<sup>3)</sup> Ср. <sup>211</sup> для Cu<sup>+</sup>.

<sup>4)</sup> Для Ca<sup>2+</sup> также ~3.

за счет перемещения  $d$ -электронов на те  $d$ -орбитали, которые наиболее удалены от лигандов. Высвобождающаяся при этом энергия называется *энергией стабилизации кристаллического поля*. Она зависит от лиганда и числа  $d$ -электронов, и для простых случаев ее удается рассчитать. Теория кристал-



лического поля была предложена для кристаллов, но может применяться и для комплексов в растворах. Для лигандов ароматического ряда и некоторых металлов (особенно железа, никеля и кобальта) нужно сделать поправку на  $\pi$ -связи. С этой поправкой теория кристаллического поля в сочетании с теорией молекулярных орбиталей образует так называемую теорию поля лигандов, которая, по-видимому, окажется практически полезной при изучении явлений хелатообразования. Более подробно по этому вопросу см. [122].

Таблица 34

Распределение катионов между некоторыми лигандами  
в нейтральных растворах [1114] <sup>1)</sup>

Лиганд	Cu <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>
Глицил	45 (8,5)	30 (4,3)	1 (10,0)
Салициловая кислота	1 (10,6)	1 (6,6)	400 (16,4)
Оксин	200 000 (12,2)	150 000 (8,0)	200 (12,3)

<sup>1)</sup> Цифры курсивом: относительные количества связанного с лигандом катиона (столбцы читать по вертикали); цифры в скобках:  $\log$  констант устойчивости комплекса состава 1 : 1.

Если члены данного ряда хелатообразующих соединений имеют примерно одинаковые константы ионизации, то относительные величины констант устойчивости этих соединений будут определять их последовательность в ряду, характеризующемся возрастанием их способности связывать катионы металлов при любом заданном значении pH. Однако для хелатообразующих агентов с сильно различающимися константами ионизации константы устойчивости не могут служить надежным критерием сродства к катионам металлов. Это объясняется тем, что при заданном значении pH эти вещества могут ионизоваться по-разному. Вещества, обладающие меньшим сродством к металлам (на что указывает более низкая константа устойчивости), благодаря различию значений  $pK_a$  могут образовать значительно большее количество анионов и присоединить большее число катионов металла, чем вещества, обладающие большим сродством к металлам. Это происходит потому, что для хелатообразования требуется не только сродство между лигандом и металлом, но и достаточная концентрация анионов лиганда (или молекул лиганда, если это основание). Этот тип конкуренции между константами устойчивости и константами ионизации иллюстрирует табл. 34.

Некоторые исследователи [501] занялись поисками «модифицированной константы устойчивости», пользуясь которой можно было бы расположить хелатообразующие вещества в определенный ряд; однако такая «условная константа» должна неизбежно иметь тот недостаток, что она окажется справедливой только для того pH, для которого была рассчитана. Этот принцип лучше всего был продемонстрирован Вайтцелем и его сотр. [1511], которые предложили пользоваться величиной  $b_{7,2}$  («физиологической константой связывания») для расположения в определенный ряд веществ, способных связываться с металлами при pH 7,2. Для расчета они пользовались простым уравнением:

$$b_{7,2} \text{ (для комплекса состава 1 : 1)} = K_1/\alpha,$$

где  $\alpha = 1 + [H^+]/K_a$ , а  $K_1$  и  $K_a$  — это первые константы устойчивости и ионизации соответственно.

Подобным же образом для комплекса состава 2 : 1 была вычислена константа  $b_{7,2}^2 = K_2/\alpha$ , а общая константа, соответствующая  $\beta$  (см. стр. 271),

была получена перемножением этих двух констант. Эти уравнения нуждаются в дополнительном уточнении для тех случаев, когда лиганд имеет более одной ионизируемой группы или когда  $K_1$  менее чем в 100 раз превышает  $K_2$ , что встречается наиболее часто.

Указанную трудность можно преодолеть более простым путем, а именно рассчитывая количество металла (в %), связанного при заданном рН, и используя полученные результаты для расположения лигандов в ряд по возрастанию степени связывания. Расчеты производятся по формулам:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Количество металла, связанного} \\ \text{в комплекс состава 1:1, \%} \end{array} \right\} = \frac{100K_1WA}{1+K_1WA+K_1K_2W^2A^2},$$

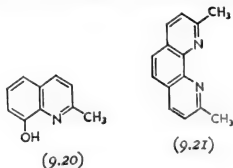
$$\left. \begin{array}{l} \text{Количество металла, связанного} \\ \text{в комплекс состава 2:1, \%} \end{array} \right\} = \frac{100K_1K_2W^2A^2}{1+K_1WA+K_1K_2W^2A^2}.$$

Здесь  $A$  — концентрация лиганда, не участвующего в образовании комплекса. Если имеется большой избыток лиганда, то вместо  $A$  можно подставить исходную концентрацию лиганда; можно также рассчитать  $A$  методом последовательных приближений;  $W = 1/(1 + 10^{(pK_{a1}-pH)} + 10^{(pK_{a1}+pK_{a2}-2pH)})$ .

#### 4. Химические различия, способствующие избирательности

После рассмотрения закономерностей, определяющих сродство к металлам, можно обратиться к некоторым интересным явлениям, которые не подчиняются этим закономерностям. Именно от таких отступлений часто зависит избирательность ионов. Сильная тенденция ионов двухвалентной меди к образованию плоских комплексов означает, что медь чрезвычайно чувствительна к пространственным затруднениям, обусловленным присутствием объемистых заместителей. В табл. 33 константы устойчивости комплексов двухвалентной меди с дипиридилем, фенантролином и фолевой кислотой расположены ниже констант для соответствующих комплексов никеля. Такое расположение не соответствует последовательности, описанной выше, в разд. 3.

Когда объемистый заместитель находится вблизи хелатообразующих групп, возникает стерический эффект иного типа; при этом два лиганда не могут сблизиться настолько, чтобы стало возможным образование прочного комплекса состава 2:1, а если катион металла имеет небольшой диаметр, то он вообще не сможет быть захвачен «в клешню». Так, например, 2-метилоксин (9.20) связывает все катионы слабее, чем оксин, причем для иона алюминия эта разница особенно велика [751, 753], так как из всех обычных металлов алюминий имеет наименьший кристаллический радиус (0,57 Å) (табл. 35). Точно так же две молекулы 2,9-диметил-*o*-фенантролина (9.21) обуславливают настолько значительные стерические затруднения, что не могут удержать ион двухвалентного железа. В данном случае взаимное расположение двух молекул лиганда, отталкивающих друг друга, оказывается таким, что атомы азота не могут образовать октаэдрический комплекс, необходимый для  $Fe^{2+}$ , и даже плоский комплекс, предпочтительный



для  $\text{Cu}^{2+}$ , образуется лишь с известным трудом. Но в то же время это новое взаиморасположение молекул лиганда прекрасно подходит для связывания  $\text{Cu}^+$  (образующей тетраэдрические комплексы). Такие комплексы одновалентной меди отличаются высокой устойчивостью и поэтому могут быть использованы для анализа. 2,9-Диметил-*o*-фенантролин обуславливает некоторые стерические затруднения для многих двухвалентных катионов даже при образовании комплексов состава 1:1 ( $K_1$ ); это означает, что стерические затруднения вызваны действием органической молекулы на гидратную оболочку иона. Для *N*-метилэтилендиамина и 2-метил-8-оксихинолина также отмечается этот  $K_1$ -эффект [752].

Вернемся теперь к тем лигандам, которые слишком велики для того, чтобы подойти друг к другу на близкое расстояние, и поэтому не могут образовать достаточно устойчивый комплекс состава 2:1 с катионом небольшого диаметра. Радиус иона магния на 0,34 Å меньше радиуса иона кальция (табл. 35). Обычно  $\text{Mg}^{2+}$  удерживается прочнее, чем  $\text{Ca}^{2+}$ , но для лигандов, молекулы которых слишком велики, чтобы их пара могла удерживать магний, верным оказывается обратное. Прямому правилу подчиняются все дикарбоновые кислоты, что объясняет структура (9.22) (см. также фиг. 5б, кривая для щавелевой кислоты). Однако винная кислота обнаруживает гораздо большее сродство к  $\text{Ca}^{2+}$ , чем к  $\text{Mg}^{2+}$  [1544]. Радиусы некоторых наиболее распространенных ионов приведены в табл. 35. Следует подчеркнуть, что ионы  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  настолько близки друг к другу по своему диаметру, что их нельзя разделить, пользуясь указанным стерическим эффектом.

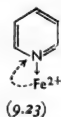
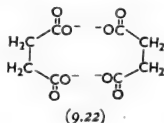
Таблица 35

## Кристаллические радиусы катионов (Å) [1107]

Катион	Радиус	Катион	Радиус	Катион	Радиус
$\text{Li}^+$	0,60	$\text{Ca}^{2+}$	0,99	$\text{Hg}^{2+}$	1,10
$\text{Na}^+$	0,95	$\text{Sr}^{2+}$	1,13	$\text{Pb}^{2+}$	1,20
$\text{K}^+$	1,33	$\text{Ba}^{2+}$	1,35	$\text{Al}^{3+}$	0,50
$\text{Rb}^+$	1,49	$\text{Mn}^{2+}$	0,80	$\text{Fe}^{3+}$	0,64
$\text{Cs}^+$	1,69	$\text{Fe}^{2+}$	0,76	$\text{Ga}^{3+}$	0,62
$\text{Cu}^+$	0,96	$\text{Co}^{2+}$	0,74	$\text{Tl}^{3+}$	0,95
$\text{Tl}^+$	1,40	$\text{Ni}^{2+}$	0,72	$\text{Co}^{3+}$	0,63
$\text{Ag}^+$	1,26	$\text{Cu}^{2+}$	~ 0,72	$\text{U}^{4+}$	0,97
$\text{Be}^{2+}$	0,31	$\text{Zn}^{2+}$	0,74	$\text{Pb}^{4+}$	0,84
$\text{Mg}^{2+}$	0,65	$\text{Cd}^{2+}$	0,97		

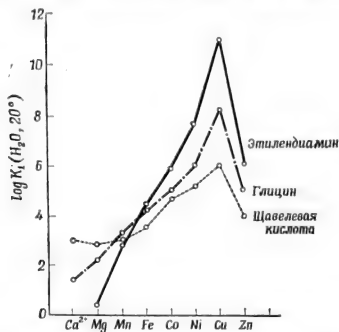
Все описанное относится к *равновесным* стерическим эффектам; о некоторых *кинетических* стерических эффектах см. в работе Уилкинса [1539].

Избирательное усиление прочности связи с железом характерно для некоторых ароматических лигандов. Оно обусловлено образованием «обратной двойной связи», т. е.  $\pi$ -связи за счет передачи железом неиспользованных электронов с 3d-орбитали (при благоприятном ее расположении) на свободные молекулярные орбитали лиганда [например, (9.23) в отличие от (9.24)]. При этом прочность связи между металлом и лигандом повышается и устой-



чивость комплекса возрастает. Ион двухвалентного железа обычно образует парамагнитные почти бесцветные комплексы. Однако с ароматическими лигандами, особенно теми из них, которые содержат азот, соединенный двойной связью, образуются интенсивно окрашенные комплексы (обычно красного цвета), не обладающие парамагнитными свойствами. Этот эффект проявляется в еще большей степени для 4-оксптеридина, фолиевой кислоты и *o*-фенантролина, у которых константы комплексов с двухвалентным железом во много раз превышают константы комплексов с цинком. Никель и кобальт также способны к образованию «обратной двойной связи», но в меньшей степени.

Сравнение значений  $\log K$  для *o*-фенантролина и 2,2'-дипиридила (табл. 33) показывает, что они подчиняются двум закономерностям, описан-



ных выше. Наличие иона  $\text{Cu}^{2+}$  предопределяет плоскую структуру комплекса, поэтому третья молекула лиганда включается в комплекс с большим трудом. Вследствие этого медь в таблице занимает необычно низкое место — ниже  $\text{Ni}^{2+}$ . Для  $\text{Fe}^{2+}$  получены очень высокие значения  $\log K$ , которые следует

Фиг. 56. Сравнительное сродство двухвалентных катионов к лигандам кислотного и азотного типа.

По оси ординат — логарифмы первых констант устойчивости; по оси абсцисс — металлы с возрастающими атомными номерами.

относить к третьей частной константе ( $K_3$ ), так как в этом случае в комплексе со спаренными спинами возможно образование «обратной двойной связи». И в конечном итоге  $\text{Fe}^{2+}$  занимает в таблице необычно высокое место — выше  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$ . Сочетание указанных двух принципов приводит к тому, что  $\text{Fe}^{2+}$  образует в комплексах такие же прочные связи, как и  $\text{Cu}^{2+}$  [752].

Иной характер обнаруживают кривые зависимости констант устойчивости от атомных номеров металлов в ряду кальция, магния, марганец, железо, кобальт, никель, медь и цинк (фиг. 56). Наиболее крутой подъем кривых характерен для тех лигандов, у которых в образовании хелатов участвуют два атома азота (например, для этилендиамина); менее крутые кривые получаются в тех случаях, когда в образовании комплекса участвуют один атом азота и один атом кислорода (например, для глицина); наименее крутые кривые характерны для тех лигандов, у которых в образовании комплекса принимают участие два атома кислорода (щавелевая кислота) [755]. Кривые для соединений, принадлежащих к этим трем классам, пересекаются на фиг. 56 между  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ . Не только  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$ , но и  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Mo}^{5+}$  и  $\text{V}^{5+}$  проявляют большее сродство к кислороду, чем к азоту.

Большинство металлов легче соединяется с кислородом, чем с серой, но  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$  и  $\text{Sb}^{3+}$ , напротив, отдают предпочтение сере; именно этим объясняется успешное применение димеркаптола в качестве антидота при отравлениях некоторыми из названных катионов. У трех других катионов,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$ , сродство к сере несколько выше, чем к кислороду, если сера находится в неионизованном состоянии, как, например, в органических сульфидах.

Другим фактором, влияющим на величину относительного сродства метал-

ла, служит изменение его окислительно-восстановительного потенциала<sup>1</sup> при хелатообразовании. Подобное изменение может происходить только у металлов с переменной валентностью (например, Cu, Fe, Co, Mn, Mo, V). В результате хелатообразования такие металлы легко изменяют свою первоначальную валентность на более высокую или более низкую. Металл с измененной валентностью займет в шкале сростства новое место.

Изучение этого эффекта только начинается, но все же некоторые выводы из данных, приведенных в табл. 36, можно сделать уже сейчас (величины

Таблица 36

Влияние лигандов на окислительно-восстановительные потенциалы  
(главным образом при 20°)

Ион металла	$E_0$ , в	Лиганд 1)	$E_0$ , в
$\text{Fe}[(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = \text{Fe}[(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	+0,77	<sup>1</sup> ЭДТА	+0,14
		<sup>1,2</sup> Салициловая кислота	+0,20—0,22
		<sup>6</sup> Цианид-ион	+0,36
		<sup>1</sup> Глицин	+0,38
		<sup>1,28</sup> Оксихинолин	+0,52—0,27
		<sup>1,2</sup> Окситетрациклин	+0,57—0,43
$\text{Co}[(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = \text{Co}[(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	+1,84	<sup>3</sup> Дипиридил	+1,06
		<sup>30</sup> Фенантролин	+1,06
		<sup>6</sup> Цианид-ион	—0,83
		<sup>32</sup> Этилендиамин	—0,22
		<sup>6</sup> Аммиак	+0,14
		<sup>29</sup> Этилендиамин	—0,38
$\text{Cu}[(\text{H}_2\text{O})_x]^+ = \text{Cu}[(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$	+0,17	<sup>2</sup> Глицин	—0,16
		<sup>2</sup> Дипиридил	+0,12
		<sup>20</sup> Фенантролин	+0,17
		<sup>1,22</sup> Метилэтилендиамин	+0,19—0,24
		<sup>1,2</sup> Пиридин	+0,20—0,27
		<sup>24</sup> Метилпиридин	+0,30
		<sup>2</sup> Аммиак	+0,34
		<sup>1,2</sup> Имидазол	+0,26—0,35
		<sup>2</sup> Бензимидазол	+0,36

1) Идентичны перл лигандом имеют то же значение, что и в табл. 33 (например, <sup>3</sup>Дипиридил означает комплекс состава 3 : 1). Данные взяты в основном у Перрена [1145] и Хаукинса и Перрена [661].

потенциалов колеблются от + 2в для наиболее сильных окислителей до — 2в для наиболее сильных восстановителей). Интересным примером служат соединения кобальта. Обычно соли двухвалентного кобальта устойчивы в водных растворах, тогда как соли трехвалентного кобальта сразу же разлагаются водой с выделением кислорода. Но после образования хелатного комплекса с этилендиамином потенциал падает настолько резко, что комплекс двухвалентного кобальта легко окисляется с образованием более устойчивого соединения трехвалентного кобальта.

<sup>1</sup>  $E_0$  — окислительно-восстановительный потенциал; это константа, вычисленная для рН 0 по следующему уравнению:

$$E_0 = E_n - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{окисл. форма}]}{[\text{восст. форма}]},$$

где  $E_n$  — это потенциал, измеренный экспериментально;  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — абсолютная температура,  $F$  — число Фарадея,  $n$  — число участвующих электронов и  $\ln$  — натуральный логарифм. При любом значении рН, отличном от 0, употребляются символ  $E'_0$  и указывают рН.

Потенциал любого комплекса определяется: а) ионным зарядом на лиганде; б) «обратной связью» металла с лигандом; в) эффектом кристаллического поля [1115]. Что касается пункта «а», то известно, например, что при анионном характере лиганда предпочтительной оказывается высшая валентность металла; касательно пункта «б» известно, что образованию «обратной связи» с железом способствует низшая валентность, и, наконец, что касается пункта «в», то для эффекта кристаллического поля предпочтительнее оказываются  $Cu$  и  $Fe$  в двухвалентном состоянии. К сожалению, пока еще не удается предсказывать потенциал комплекса только исходя из этих трех факторов, без проведения необходимых измерений. В табл. 36 приведены окислительно-восстановительные потенциалы некоторых ионов и их комплексов.

Из данных, приведенных в табл. 36, совершенно очевидно, что некоторые комплексы оказываются значительно более сильными окислителями, чем соответствующие свободные катионы металлов. Хелаты диэтилдитиокарбаматов способны разлагать тиоктовую кислоту [1322]. Было высказано предположение, что окисление изониазида, осуществляемое в клетках микобактерий туберкулеза, катализируется металлами [1557]. Обычно в подобных случаях хелатообразующее вещество соединяется с металлом, обладающим переменной валентностью ( $Fe$ ,  $Cu$ ). Однако увеличение химической активности вследствие хелатообразования отмечается не только для металлов переменной валентности. В результате хелатообразования в атоме металла происходит перераспределение электронов и иногда изменяется его геометрия; в определенных условиях активность металла может повышаться за счет обоих факторов.

Гораздо реже встречаются комплексы, образование которых обусловлено иным видом химической избирательности. Такие комплексы, которые Бьеррум [179] называет жесткими («robust complexes»), не находятся в состоянии термодинамического равновесия со своими компонентами. Примером может служить никелевый комплекс ЭДТА (другие комплексы ЭДТА имеют обычный характер), а также комплексы *o*-фенантролина с  $Fe^{2+}$  и  $Ni^{2+}$  (состава 3 : 1), образующиеся только в результате непрямой (хотя и довольно быстрой) реакции, катализируемой ионом водорода. Представителями другого типа жестких комплексов служат железосодержащие (железо входит в состав гемогруппы) пигменты (к их числу относятся порфирины, например гемоглобин).

Таким образом, образование этих жестких комплексов определяется не только константами устойчивости, но и константами скорости, поскольку оно сопряжено с преодолением энергетического барьера.

Рассматривая взаимодействие лигандов и металлов в другом аспекте, следует отметить, что металл, входящий в комплекс, может существенным образом изменить реакционную способность органического лиганда:

- а) изменяя распределение электронов в лиганде,
- б) маскируя химически активный центр лиганда,
- в) искажая стереохимическую форму молекулы лиганда,
- г) облегчая присоединение или отщепление электронов,
- д) увеличивая липофильность лиганда и, следовательно, способствуя его проникновению в живую клетку.

Более подробные сведения о химии хелатообразования см. в работе Мартелла и Кальвина [971].

### **5. Различные механизмы биологического действия хелатообразующих агентов (введение)**

Факт двухфазной чувствительности организмов к металлам, продемонстрированный на примере овса (фиг. 51), свидетельствует о существовании двух различных механизмов действия хелатообразующего агента в биологи-

ческих системах: первый из них — удаление металлов из клетки или маскировка их в клетке, а второй — накопление металлов в клетке в большом количестве (или при более высоком окислительном потенциале), чем в обычных условиях. Дальнейшее подразделение зависит от того, являются исследуемые металлы жизненно важными или токсичными для организма.

*Механизм 1.* Лишь в редких случаях сам хелатообразующий агент оказывается токсичным для организма. Оксин (9.30), например, проникает в клетки бактерий и грибов, не нанося им заметного вреда (см. ниже, разд. 7, а). Такая невосприимчивость в данном случае объясняется тем, что жизненно важные металлы обычно очень прочно связаны с компонентами клетки.

Наиболее детально изучено токсическое действие цианистого водорода. Последний связывает свободные валентности железа в цитохромоксидазе, не нарушая его связей с порфириновым ядром. В результате фермент лишается возможности соединиться со своим субстратом (кислородом) и клеточное дыхание прекращается. У многих видов это приводит к немедленной гибели.

Хелатообразующие агенты, реагирующие по механизму 1, получили распространение в качестве антидотов; они способны маскировать или удалять токсичные металлы, случайно попавшие в организм высших млекопитающих. Речь об этих антидотах пойдет далее, в разд. 6.

*Механизм 2.* В разд. 1 было изложено использование этого механизма для подкормки деревьев железом. Другой пример — инъекции больным кальциевого комплекса глюконовой кислоты, который медленно разрушается в организме, выделяя ионы кальция и таким образом играя роль депо кальция. Но наиболее изученные примеры агентов, действующих по механизму 2, можно найти среди хелатообразующих бактерицидных и фунгицидных средств (разд. 7). Сведения, необходимые для понимания механизма 2, мы излагаем ниже.

*«Кооперативный» эффект.* Явление возрастания химической активности металла в результате хелатообразования убедительно иллюстрируется на примере гемоглобина гемсодержащих ферментов. Неорганические соли железа обладают некоторой каталазной и пероксидазной активностью, которая многократно возрастает в результате включения железа в порфириновое ядро, связанное со специфическим белком. И еще пример: ионы одновалентной меди катализируют окисление аскорбиновой кислоты на воздухе, но каталитическое действие меди во много раз возрастает после ее включения в фермент аскорбиноксидазу.

Подобный кооперативный эффект может иметь место и без участия белков. Часто в тех случаях, когда комплексообразующий агент добавляют для того, чтобы связать и тем самым инактивировать металл, наблюдается как раз обратное: образующийся комплекс оказывается более активным катализатором. Токсическим действием, как правило (но не всегда), обладают те металлы, которые могут существовать в нескольких валентных состояниях, в частности медь и железо. Кооперативный эффект чаще всего наблюдается в тех случаях, когда прибавлено недостаточное количество комплексообразующего агента, т. е. когда образуется ненасыщенный комплекс.

Потемнение диоксифенилаланина в результате окисления в присутствии сульфата двухвалентной меди сильно ускоряется при добавлении *о*-фенантролина [756]. Окисление глутатиона в экстракте из ткани хрусталика ускоряется в присутствии ЭДТА [1145]. Как *о*-фенантролин, так и дипиридил в 100 раз повышают скорость разложения перекиси водорода, катализируемого железом. Эти вещества представляют собой модели каталазы, а возможно, и других гемопroteinных ферментов. Действие пероксидазы и каталазы имитируется марганцем, кобальтом и железом в присутствии пирид-

оксальфосфатэтилендиамина или дисульфосалицилиденэтилендиамина [875]. Дисалицилиденэтилендиамин замедляет аутоокисление циклогексана, катализируемое медью, и сильно ускоряет эту реакцию, если она катализируется железом, но не оказывает сколько-нибудь заметного влияния на каталитическое действие ионов кобальта или марганца [300]. Гидролиз диизопропилфторфосфата, катализируемый медью, сильно ускоряется аминокислотами, этилендиамином, *o*-фенантролином и дипиридилем. Максимальный эффект наблюдается при таких соотношениях компонентов, при которых образуется комплекс состава 1:1 [1478]. ЭДТА не влияет на эту реакцию, поскольку это соединение неспособно давать кооперативный эффект с медью; более того, ЭДТА нарушает кооперативный эффект от действия оксина совместно с медью [275].

Механизм действия многих агентов, обладающих избирательной токсичностью, основан на кооперативном эффекте (см. ниже, разд. 7). Действие металлических комплексов, как правило, отличается значительно большей избирательностью, нежели действие неорганических соединений металлов.

*Эффект распределения.* Клеточные мембраны, как известно, точно регулируют поглощение катионов тяжелых металлов, причем даже жизненно важных катионов, поскольку, будучи абсолютно необходимыми для клеток в следовых количествах, в избытке они оказываются токсичными<sup>1</sup>. Однако комплексы, не имеющие заряда, жирорастворимы и поэтому способны проходить через клеточные мембраны, которые, по-видимому, не в состоянии регулировать их проникновение. Комплексы двухвалентных металлов со щавелевой кислотой, а также их комплексы с глицином состава 2:1 не имеют заряда (фиг. 52) и могут легко проникать в клетку (следует отметить, что комплексы полидентантных соединений типа ЭДТА (9.27) часто содержат избыток групп, способных соединяться с металлом, и не могут проникать через обычные клеточные мембраны). За счет образования таких жирорастворимых комплексов хелатообразующий агент способен осуществлять усиленный транспорт металла в клетку. Впрочем, можно считать, что металл способствует транспорту хелатообразующего агента.

Металлические хелатные комплексы могут иногда оказывать свое действие, находясь вне микроорганизма, — это отмечается в тех случаях, когда отрицательный заряд наружной поверхности клетки обуславливает притяжение положительно заряженных комплексов. Хелатные комплексы с глицином приобретают положительный заряд при неполном насыщении (например, комплексы с двухвалентными металлами состава 1:1), а комплексы с агентами типа этилендиамина положительно заряжены при любой степени насыщения (фиг. 52).

## 6. Уменьшение токсического действия металла в результате хелатообразования

Многие хелатообразующие агенты широко используются в клинике в качестве антидотов при профессиональных отравлениях, в случаях передозирования лекарственных препаратов или для ускорения выведения из организма радиоактивных элементов. С этой целью хелатообразующие вещества начали применять только после 1945 г. Такие антидоты циркулируют в крови, не уменьшая концентрацию жизненно необходимых тяжелых металлов

<sup>1</sup> Железо токсичнее, чем обычно полагают; большие дозы сульфата двухвалентного железа, принятые внутрь, могут вызвать некроз печени у человека через двое суток [932]. Токсическое действие вируса энцефаломиелита, который содержит много железа, объясняют переносом железа через гемато-энцефалический барьер, который в норме для него непроницаем [1171]. В биологических системах ионы двухвалентного железа сильно и специфично ингибируют окисление фосфоглицеральдегида в ходе нормального гликолиза [1172].



в организме. При этом, конечно, необходимо строго контролировать дозу. Для того чтобы антидот был способен проникать в клетки в небольшом количестве и быстро выводиться из организма, его молекулы должны содержать достаточное число атомов водорода, способных ионизоваться или образовывать водородные связи (например, в группах  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ), так чтобы по крайней мере один из них оставался свободным после насыщения антидота металлом. Первый такой антидот — димеркапрол (9.25) —

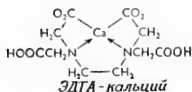


Димеркапрол

(9.25)



(9.26)



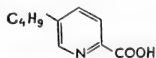
ЭДТА-кальций

(9.27)



Цистеамин

(9.28)



Фузаровая кислота

(9.29)

был предложен в качестве противоядия для мышьяксодержащего боевого отравляющего вещества [1135]. Он получил название «британский антилюизит» (БАЛ). В настоящее время его часто применяют для связывания золота, ртути (как в виде неорганических, так и органических соединений), сурьмы и мышьяка. Каким образом происходит связывание металла, демонстрирует формула (9.26). Димеркапрол вводят внутримышечно (2 или 3 мг на 1 кг веса тела) каждые четыре часа в течение первого дня, а затем в зависимости от состояния больного. При этом не только блокируется токсическое действие металлов, но они в конце концов выводятся из организма, оставаясь связанными с антидотом. Пеницилламин (диметилцистеин) точно так же применяли при отравлениях медью.

Этилендиаминтетраацетат кальция (9.27) служит наиболее эффективным противоядием при отравлении свинцом [165, 1316]. Его вводят внутривенно в виде динатриевой соли. Раньше при отравлении свинцом употребляли комплекс ЭДТА с натрием, т. е. то же вещество, но не содержащее кальция, однако при этом возникала гипокальциемия. С другой стороны, внутривенное введение ЭДТА — натрия с целью устранения отложений кальция в миокарде при коронарной болезни не дало ожидаемых результатов. В настоящее время считают, что соли кальция проникают настолько глубоко, что становятся недоступными для воздействия этого препарата. С точки зрения избирательности наиболее интересен тот факт, что состояние больных не ухудшается даже после длительного лечения: по 3 г в виде 0,5%-ного раствора каждые 24 часа, инъекции производились в течение 5 дней в неделю 3 недели подряд, а затем через недельный перерыв курс повторяли. Однако более высокие дозы вызывали патологические симптомы со стороны почек («и некоторых других органов») [1298].

ЭДТА — кальций (9.27) с успехом применяли также при отравлениях ванадием.

При отравлении бериллием применяют большие дозы салицилата натрия или более низкие дозы ауринтрикарбоновой кислоты, которая содержит три остатка салициловой кислоты, связанных с центральным атомом углерода. Ауринтрикарбоновая кислота не способствует выведению бериллия из организма, а удерживает его в тканях в виде нерастворимого комплекса.

Деферриоксамин, полученный при удалении железа из природного ферриоксамина, применяется для элиминации избытка железа в случаях его чрезмерного накопления в организме [811].

2-Меркаптоэтиламин (9.28) (цистеамин) с успехом используют для предупреждения лучевого поражения. Было показано, что у мыши, получившей 750 рад (разовая доза при общем облучении), сильно возрастает содержание железа и меди в костном мозгу, надпочечниках, селезенке, печени, легких, зобной железе, а также железа в мышцах и почках [1593]. Некоторые исследователи считают, что радиозащитные свойства цистеамина обусловлены его способностью «захватывать» катионы тяжелых металлов, высвобождающиеся из клеток при облучении [783] (другие гипотезы рассмотрены Брауном [242]). Такое блокирование ионов железа и меди должно автоматически блокировать любой деструктивный цепной процесс (окислительный), катализируемый этими металлами. Два пункта этой гипотезы нуждаются в экспериментальной проверке: 1) зависит ли протекание деструктивного цепного процесса, вызванного облучением, от присутствия железа или меди; 2) повышается или снижается способность железа и меди стимулировать этот процесс после связывания их с цистеамином. Известно, что многие вещества, сходные по своей структуре с цистеамином, также способны предотвращать лучевую болезнь. К ним, в частности, относится 2-меркаптоэтилгуанидин, образующийся в организме из S-(2-аминоэтил)изотиурониевых солей [435].

Некоторые радиоактивные катионы могут быть удалены из организма посредством обменного разведения; этот метод состоит в введении того же катиона (но не радиоактивного) в виде комплекса средней степени устойчивости. Например, для удаления радиоактивного изотопа циркония применялся цитрат циркония [1283].

Как предполагают, фузаровая кислота (9.29) — токсин, вырабатываемый патогенными грибами в пораженных растениях, — действует в форме железного комплекса. Гибель растений от этого токсина можно предотвратить с помощью хелатообразующих агентов [1390].

## 7. Усиление токсического эффекта металла в результате хелатообразования

После того как в 1944 г. было обнаружено, что бактерицидное действие 8-оксихинолина (оксина) (9.30) обусловлено хелатообразованием [21, 49], возникло предположение, что многие другие антибактериальные и противогрибковые средства действуют подобным же образом. Вскоре выяснилось, что оксин мало активен или совсем неактивен в среде, не содержащей тяжелых металлов [35, 1242]. Следовательно, его действие можно было объяснить не удалением жизненно важного металла из организма, а образованием летального комплекса с каким-либо присутствующим в клетке металлом, даже если этот металл сам по себе и не играет важной роли (разд. 7, а). Впоследствии было показано, что в основе антибактериального действия ряда веществ, структурно близких к оксину (разд. 7, б), а также других веществ, химически далеких от него (разд. 7, в), лежит этот же механизм, суть которого составляет кооперативный эффект, описанный выше, в разд. 5. По-видимому, все эти агенты активируются только металлами с переменной валентностью.

## а. Механизм действия 8-оксихинолина (оксина)

Зависимость антибактериального действия оксина от хелатообразования была доказана автором этой книги и его сотрудниками [49]. Оксин давно уже применяется в аналитической химии в качестве хелатообразующего агента. Он обладает ярко выраженными хелатообразующими свойствами (табл. 33). Все остальные 6 изомеров оксина оказались полностью неспособными к образованию хелатов, и все они не обладают антибактериальной активностью. В то же время оксин в концентрации всего 2 ч. на млн. останавливает рост стафилококков и стрептококков. Далее оказалось, что два метильных производных оксина, (9.31) и (9.32), также лишены как хелатообразующей способности (это можно было предвидеть, так как  $\text{CH}_3$ -группа в отличие от Н не может обмениваться на металл), так и антибактериальной активности. Таким образом была установлена зависимость между хелатообразованием и антибактериальным действием. Оставалось только выяснить, связано ли токсическое действие оксина с удалением жизненно важных металлов, как это предполагал Центмайер [1604], или же оксин усиливает токсическое действие металлов, обычно присутствующих в питательной среде. Второе предположение оказалось правильным для агентов как бактериостатического, так и бактерицидного действия [35, 1242]. Первым доказательством в его пользу послужило явление, известное под названием «обращение эффекта концентрации».

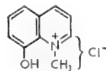
8-Оксихинолин  
(оксин)

(9.30)



8-Метоксихинолин

(9.31)

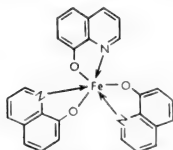
Хлорметил-  
оксина

(9.32)



Комплекс оксина с железом (III) (1:1)

(9.33)



Комплекс оксина с железом (III) (3:1)

(9.34)

**Обращение эффекта концентрации.** Трудно предположить, чтобы эффективность биологически активного вещества уменьшалась при возрастании его концентрации. Однако были обнаружены случаи, когда подобное явление имеет место. Оно получило название *обращения эффекта концентрации*. Так, было показано (табл. 37), что стафилококки, погибающие в течение 1 час при концентрации оксина  $M/100\,000$ , при концентрации  $M/1600$  не погибают

даже через 3 час (фактически они остаются живыми даже в насыщенном растворе, концентрация которого равна  $M/200$ ). Токсическое действие (незначительное), однако, отмечается через 24 час [35]. Аналогичным образом оксин действует и на стрептококки.

Таблица 37

Влияние увеличения концентрации на бактерицидное действие оксина в бульоне <sup>1)</sup> [35]  
(«обращение эффекта концентрации»)

Величина, обратная концентрации оксина в молях	Рост через			
	0	1 час	3 час	24 час
800	++++	++++	++++	+
1 600	++++	++++	++++	+
3 200	++++	++++	++++	+
6 400	++++	++++	++++	—
12 800	++++	+	+	—
25 000	++++	+	—	—
50 000	++++	+	—	—
100 000	++++	—	—	—
200 000	++++	+++	+++	+++

<sup>1)</sup> Эксперимент проводился на *Staphylococcus aureus* в мясном бульоне (рН 7,0—7,3; 20°). Определение бактерицидного действия основано на тесте Майлса и Мизра [998]. Через определенные промежутки времени отбирают пробы, которые затем разводят, и производят посев на чашках с кровяным агаром. Чашки просматривают через 48 час при 37°. Обозначения: знак — роста нет; + до 50 колоний; ++ 50—100 колоний; +++ обильный рост.

Сущность этого явления проявилась после того, как было обнаружено, что его можно наблюдать только в бульоне, но не в дистиллированной воде.

*Эксперименты с оксином в дистиллированной воде.* Факт жизнеспособности стафилококков в дистиллированной воде в течение по крайней мере 24 час позволяет сделать выводы, имеющие решающее значение. Из данных, приведенных в табл. 38, явствует, что в дистиллированной воде оксин ( $M/100\ 000$ ) сам по себе не обладает бактерицидным действием, но приобретает его в присутствии эквивалентного количества железа (само железо в такой концентрации нетоксично). Ясно, что токсическим агентом служит не сам оксин, а комплекс его с железом.

*Эксперименты с оксином в бульоне.* Если вместо воды использовать бульон, то нет необходимости добавлять железо, так как достаточное количество его вносится вместе с мясом при приготовлении бульона. При увеличении концентрации оксина до  $M/800$  бактерицидное действие исчезает («обращение эффекта концентрации»). Нам казалось очевидным, что токсическими свойствами должен обладать комплекс состава 1:1 (9.33) или 2:1, но не 3:1 (9.34), который образуется в качестве единственной формы, когда оксин присутствует в избытке. Мы добавили необходимое количество железа ( $M/800$ ), для того чтобы уравнивать его концентрацию с концентрацией оксина; при этом вновь образуется комплекс состава 1:1. Как мы и ожидали, при такой комбинации бактерицидное действие достигло того же уровня, что и при исходной концентрации оксина (табл. 38). Само железо нетоксично в концентрации  $M/800$ ; токсичным его делает оксин.

*Металлы, дающие с оксином «кооперативный эффект».* В отсутствие тяжелых металлов оксин проникает в бактериальные клетки (*Staphylococcus aureus*), не причиняя им никакого вреда [140]. На клетки грибов (*Aspergillus*

Таблица 38

Отсутствие токсичности у оксина в средах, не содержащих железа  
(тест на бактерицидность; *Staphylococcus aureus*)  
(рН 6—7, 20°) [35]

Величина, обратная концентрации оксина в молях	Величина, обратная концентрации FeSO <sub>4</sub> или Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> в молях	Рост через 1 час	
		в воде, дистиллированной в стекле	в неочищенном мясном бульоне
0	0	++++	++++
100 000	0	++++	—
0	100 000	++++	++++
100 000	100 000	—	—
800	0	++++	++++
0	800	++++	++++
800	800	—	—

*niger*) оксин также не оказывает токсического действия [609]. (Последнее исследование было проведено с двумя разновидностями радиоактивного оксина, одна из которых была получена из C<sup>14</sup>-анилина, а другая — из C<sup>14</sup>-глицерина.) Однако в присутствии соответствующего металла оксин оказывается весьма токсичным для этих микроорганизмов.

Оксин действует на грамположительные бактерии только в том случае, если в питательной среде присутствует один из следующих катионов: Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> или Fe<sup>3+</sup>. При этом феррокомплекс оксина в аэробных культурах, а также на воздухе быстро окисляется в ферриформу. На большинство грамотрицательных бактерий оксин действует слабо, но при этом даже у таких высокочувствительных видов, как *Brucella abortus*, заметной потребности в каком-нибудь определенном металле не отмечается [1242]. Оксин повреждает мицелий грибов только в присутствии ионов двухвалентной меди в питательной среде; железо никакого действия не оказывает [68, 189]. Сказанное относится также к дрожжам [1063].

Таблица 39

Защитное действие кобальта против бактерицидного действия комплексов оксин—железо и оксин—медь<sup>1)</sup>

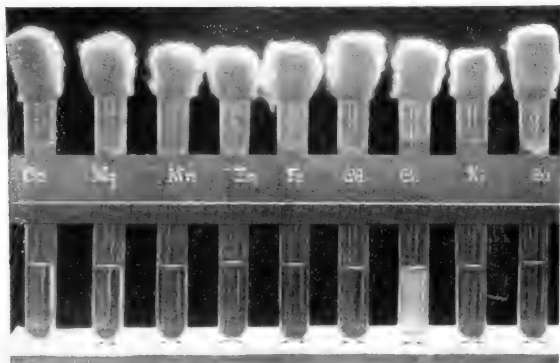
№ пробы	Величина, обратная концентрации (в молях) добавленного металла			Рост после инкубации в течение			
	FeSO <sub>4</sub>	CuSO <sub>4</sub>	CoSO <sub>4</sub>	0	2 час	4 час	24 час
1	0	0	0	++++	++++	++++	++++
2	50 000	0	0	++++	—	—	—
3	50 000	0	50 000	++++	++	++	++++
4	0	50 000	0	++++	—	—	—
5	0	50 000	50 000	++++	—	—	—
6	0	50 000	10 000	++++	++++	++++	++++

1) Опыты проводились на *Staphylococcus aureus* (бульон, очищенный от металлов; рН 7,3; 20°). Концентрация оксина в каждой пробе составляет M/25 000 [35].

**Антагонизм кобальта в отношении токсического действия комплекса оксина с железом.** Добавление большого избытка (200 экв) какого-либо инертного металла, очевидно, могло бы предотвратить токсическое действие комплекса оксина с железом, если бы константа устойчивости нового комплекса была выше или лишь немногим ниже, чем константа устойчивости комплекса оксин—железо. При этом, согласно закону действия масс, оксин должен

почти полностью соединиться с инертным металлом. Как и следовало ожидать, кадмий, кобальт, цинк и никель в этих условиях оказывают защитное действие, а марганец, магний и кальций неэффективны (соответствующие константы устойчивости см. в табл. 33).

Кобальт, однако, занимает особое положение: он оказывает защитное действие не только в тех случаях, когда присутствует в больших количествах, но и тогда, когда имеются лишь его следы. Сульфат двухвалентного кобальта даже в очень низкой концентрации ( $M/25\ 000$ ) полностью снимает



Фиг. 57. Антагонизм между оксинном и следами кобальта.  
*Staphylococcus aureus* в питательном бульоне, pH 7,2.

бактериостатическое действие оксинна в концентрации  $M/100\ 000$  [1242]; этот антагонизм наглядно иллюстрирует фиг. 57. Данные, приведенные в табл. 39, характеризуют эффективность кобальта как антагониста бактерицидного действия комплекса оксин — железо. В отношении комплекса оксин — медь его эффективность лишь немного ниже.

Кобальт защищает также и дрожжи от действия комплекса оксин — медь [1063]. Молибден (но не кобальт) в небольшой степени защищает мицелий грибов от действия оксината меди [68, 189], но молибдаты являются эффективными осадителями меди, активными даже при большом разведении.

Эффективность защитного действия кобальта против летального эффекта оксинна у трипаносом совершенно уникальна, как это видно из данных, приведенных в табл. 40 [1546].

Каково же объяснение подобного защитного действия кобальта? Можно было бы предположить, что кобальт просто соединяется с оксинном и не дает возможности образоваться оксинату железа. Но если бы это было так, то никель должен был бы оказаться еще более эффективным, поскольку константа устойчивости комплекса оксинна с никелем гораздо выше, чем у оксината кобальта (см. табл. 33, а также [25]). Между тем никель в низких концентрациях защитного действия не имеет.

К более правильным выводам можно прийти на основании того факта, что некоторые жизненно важные компоненты клеток, особенно меркапто-соединения (типа тиоктовой кислоты, см. разд. 7, в) и аскорбиновая кислота,

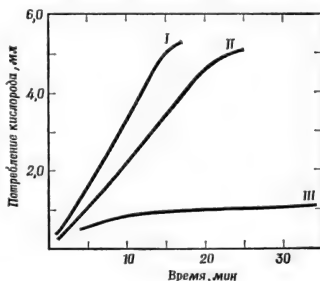
Таблица 40

Защитное действие кобальта против трипановидного действия оксина<sup>1)</sup>

№ пробы	Величина, обратная концентрации в молях			Относительное число выживших трипаносом по сравнению с контролем, %
	оксин	Co <sup>2+</sup>	любой из следующих катионов: Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	
1	0	0	0	100
2	800 000	0	0	< 1
3	800 000	400 000	0	117
4—9	800 000	0	400 000	< 1

<sup>1)</sup> Опыты проводились на *Trypanosoma rhodesiense* (физиологический раствор, содержащий лошадиную сыворотку и глюкозу; инкубация при 37° в течение 4 час) [1546].

легко окисляются кислородом воздуха в присутствии следов железа или меди. В результате образуется перекись водорода, которая в свою очередь окисляет новые порции субстрата. Таким образом, металл и перекись водорода совместно вызывают взрывоподобную цепную реакцию, так что очень



Фиг. 58. Защитное действие кобальта против окисления (с помощью O<sub>2</sub>) цистина (M/40, 20°), катализируемого медью.

I — сульфат двухвалентной меди (M/10 000);  
II — сульфат двухвалентной меди (M/100 000);  
III — то же, что и II, но с сульфатом двухвалентного кобальта (M/500).

небольшое количество металла может катализировать широко распространенный эффективный процесс. Изучение модельных реакций подобного типа показало, что следы кобальта эффективно прерывают подобные цепные реакции и тормозят процесс разрушения (фиг. 58).

Оксин является кооперативным хелатообразующим агентом (см. выше, разд. 5). Так, смесь неорганической соли железа с оксином катализирует окисление SH-групп воздуха в нуклеопротеидах печени крыс и икры рыб, тогда как неорганическое соединение железа само по себе в этих случаях неэффективно [163]. Исключительно высокая каталитическая активность оксината железа, по-видимому, является следствием перестройки орбиталей ферри-катиона в процессе хелатообразования (в пользу чего свидетельствует необычная окраска комплексов оксина: красная — с двухвалентным железом и зеленая — с трехвалентным). Более подробные сведения о свободных радикалах, способных вызывать цепные реакции, см. в гл. 13.

Разумно предположить, что токсическими формами служат комплексы трехвалентного железа состава 1:1 или 2:1, так как они обладают известной степенью ненасыщенности, т. е. способностью к связыванию, что необходи-

мо для любого катализатора. Комплекс же состава 3:1 (9.34) насыщен, и поэтому менее вероятно, что он может являться катализатором.

Тот факт, что кобальт не защищает плесневые грибы от действия оксина, свидетельствует о каком-то ином механизме действия оксина на эти микроорганизмы. Другим доказательством этого служит медленность токсического действия. Оксин убивает бактерии в течение нескольких минут, тогда как его фунгистатический эффект может быть снят, даже после многодневного контакта, путем погружения в кислоту. Недавно было высказано предположение, согласно которому фунгицидное действие оксина и родственных ему по строению веществ объясняется их способностью ускорять обычно медленное включение тяжелых металлов в порфириновое ядро [1140].

*Место действия оксината железа* неизвестно. Любая гипотеза на этот счет должна учитывать следующие факторы. Производные оксина с низким коэффициентом распределения в системе масло/вода не обладают антибактериальным действием. Например, оксин-5-сульфокислота имеет такие же константы устойчивости, как и сам оксин, но, в отличие от оксина, она не имеет тенденции к переходу из воды в липиды и совершенно лишена антибактериальных свойств.

Для того чтобы подтвердить важное значение высокого коэффициента распределения для антибактериальной активности оксина, был синтезирован [39, 40] и исследован ряд производных оксина, не имеющих электрического заряда и отличающихся низкими коэффициентами распределения [41]. Речь идет об азаоксинах, описанных ниже, в разд. 7, б. Антибактериальное действие этих соединений усиливается или ослабляется пропорционально увеличению или уменьшению коэффициентов распределения, вызванному незначительными изменениями в строении молекул. Таким образом, определяющую роль в активности оксина и его производных играет высокий коэффициент распределения. На основании этого было высказано предположение, что место действия оксина находится *внутри* клетки. Однако не исключено также, что оно находится в плазматической мембране.

Стремительное бактерицидное действие оксината железа (часто в течение 3 мин) значительно замедляется в присутствии избытка железа или оксина (табл. 38). Если исходить из гипотезы, согласно которой место действия оксина находится на наружной поверхности полупроницаемой мембраны, то комплекс состава 2 : 1 должен быть токсичным в отличие от комплексов состава 1 : 1 и 3 : 1. Согласно же гипотезе о действии оксината железа внутри клетки, весьма вероятно, что ненасыщенные комплексы состава 1 : 1 или 2 : 1 токсичны, но не могут проникнуть через мембрану, тогда как насыщенный комплекс (3 : 1), способный проникать через мембрану, нетоксичен, и гибель микроорганизма вызывается разложением в клетке этого комплекса и образованием токсичных комплексов состава 1 : 1 или 2 : 1 (или даже свободных ферри-ионов<sup>1</sup>). В присутствии избытка железа может существовать только комплекс состава 1 : 1, а в присутствии избытка оксина — только комплекс 3 : 1, разрушение которого может быть предотвращено, если одновременно в клетку будет проникать оксин (см. стр. 287).

*Применение оксина и его производных.* Антибактериальный спектр оксина сходен со спектром пенициллина. Подобно аминоакридинам, он при местном применении предотвращает возникновение штаммов, резистентных к антибиотикам. Преимущество оксина по сравнению с аминоакридинами состоит в его более быстром действии и фунгицидных свойствах. Однако

<sup>1</sup> Предположение о том, что неорганическая соль железа является истинным токсическим агентом, было высказано по отношению к 2-меркаптопиридин-N-оксиду, имеющему тот же механизм действия, как и оксин (см. об этом также в разд. 7, в), но гораздо легче поддающемуся окислительному разложению [45]. Эта гипотеза подтверждается и применением комплекса ЭДТА — железо (III) для переноса неорганических солей железа в растения (см. выше, разд. 1).



и аминоакридины имеют свои преимущества, заключающиеся в их активности против грамотрицательных бактерий, — активности, которая сохраняется и в присутствии крови.

Оксин под названиями «оксихинолин» или «гидроксихинолин» можно найти в фармакопеех и рецептурных справочниках многих стран. Он применяется в виде 0,001—0,02%-ного лосьона при микозах и микробных экземах. 0,1%-ный масляный раствор применяется для грудных детей (под названием «детское масло»). Хинологорую мазь, содержащую смесь 5-хлор- и 5,7-дихлороксина, применяют при устойчивых стафилококковых инфекциях, грибковых заболеваниях и при инфекционных поражениях полости рта и фарингитах.

5,7-диiodоксин (диiodоксхин, диiodохин), также входящий во многие фармакопеи, употребляется внутрь при амебиазе и местно при инфекциях, вызываемых *Trichomonas vaginalis*. 5-Хлор-7-iodоксин (хиниоформ, иодохлоргидроксхин, виоформ) применяется в таких же случаях, а также при гнойничковых заболеваниях кожи (импетиго), сикозе, ангулярном стоматите, грибковых заболеваниях, инфекционной экземе и заушном дерматите [974]. Его часто применяют совместно с кортикостероидами для лечения контактных дерматитов. Хиниоформ и хиниофон (7-iodоксин-5-сульфокислота; ятрен) применяются внутрь при дизентерии.

Было испытано действие многих производных и аналогов оксина на микобактерия туберкулеза, главным образом *in vitro*. При этом было обнаружено, что медь (но не железо) усиливает действие оксина; антагонистом меди в данном случае обычно служит кобальт [483].

Комплексы оксина и меди применяют в сельском хозяйстве для опрыскивания против патогенных грибов, но реже, чем диметилдифталокарбаматы (разд. 7, в). В больших количествах оксинат меди применяют для защиты строительных материалов против гниения.

Несмотря на высокую антибактериальную активность при обработке ран, оксин и его производные не вводят в кровь, так как они инактивируются эритроцитами [41, 45, 1242]. Имеются данные, согласно которым эритроциты выделяют какое-то термолabile вещество, связывающее оксин [139].

#### 6. Вещества, близкие к оксину по своему химическому строению

С молекулой оксина без уменьшения его активности может быть конденсировано пиридиновое или бензольное кольцо. Однако не следует проводить конденсирование в положения 2, 3, иначе возникают стерические затруднения, препятствующие хелатообразованию [49].

Увеличение коэффициента распределения оксина в четыре раза путем введения липофильных заместителей не сопровождается заметным повышением его активности *in vitro* (по-видимому, коэффициент распределения самого оксина оптимален для его биологической активности [45]). Поэтому было интересно выяснить, что произойдет, если коэффициент распределения будет уменьшен введением соответствующих заместителей. С этой целью были синтезированы аналоги оксина, у которых одна или несколько групп  $=\text{CH}$  — замещены значительно более гидрофильным атомом  $=\text{N}$  — [39, 40]. Все эти вещества имеют тривиальные названия, например 8-оксидинолин, 8-оксидиназоллин и 8-оксидиноксалин, но для наших целей удобнее пользоваться названиями: 2-азаоксин, 3-азаоксин (9.35) и т. д.

Введение атомов азота и кислорода приводит к снижению (а введение атомов галогенов и алкильных групп к повышению) коэффициентов распределения. Данные, приведенные в табл. 41, с очевидностью показывают, что, как и следовало ожидать, при замене группы  $=\text{CH}$  — на  $=\text{N}$  — коэффициент распределения снижается; при этом снижается и антибактериальная активность. Далее, не удаляя атома азота, можно повысить коэффициент

распределения (путем введения алкильной группы, состоящей не более чем из трех атомов углерода) до величины, характерной для оксина, и даже выше. При этом возрастает также антибактериальная активность, достигая некоторого определенного максимума [41].

Таблица 41

Ослабление и усиление бактериостатического действия  
в зависимости от изменений коэффициентов распределения <sup>1)</sup> [41]

Вещество	Коэффициент распределения в системе олеиновый спирт/вода	Минимальное разведение, при котором наблюдается ингибирующий эффект, 1/М	Логарифм первой константы устойчивости (с N <sup>12+</sup> )
Оксин	67	200 000	9,8
5-Азаоксин	< 0,02	< 800	5,8
7-Азаоксин	0,1	< 800	6,7
6-Азаоксин	1	< 800	5,9
3-Азаоксин	5	13 000	7,6
2-Азаоксин	6	13 000	7,8
4-Азаоксин	8	6 400	7,6
4-Метил-2-азаоксин	16	25 000	8,1
4-Метил-3-азаоксин	17	50 000	7,9
4-Пропил-3-азаоксин	135	100 000	7,9
7-Алил-3-азаоксин	310	100 000	7,9

<sup>1)</sup> Опыты проводились на *Streptococcus pyogenes* (мясной бульон; pH 7,3; 37°).

Необходимо отметить, что вследствие индукционного эффекта второго атома азота высокой константы устойчивости, характерной для оксина (при последовательных разведениях в 2 раза), так и не удается достигнуть. Однако константы устойчивости последних семи соединений, приведенных в таблице, близки к константе устойчивости оксина. У этих соединений антибактериальное действие и коэффициенты распределения изменяются параллельно, что указывает на их взаимозависимость.



3-Азаоксин

(9.35)

N-окись 2-меркаптопиридина  
(омадин)

(9.36)



(9.37)

в. Вещества, далекие от оксина по своему химическому строению, но обладающие аналогичным действием

Аспергилловая кислота — антибиотик, являющийся производным N-окиси пиазина, обладает слабым антибактериальным действием. Антибактериальная активность N-окисей пиридина, хинолина и бензохинолина одинакова, если только у них, как и у аспергилловой кислоты, в положении 2 находится оксигруппа, необходимая для образования хелатных комплексов. Еще активнее в этом отношении меркаптогруппа. Так, например N-окись 2-меркаптопиридина (9.36) обладает такой же антибактериальной активностью, как и оксин. Хотя строение хелатных комплексов омадина [например, (9.37)] и оксина [например, (9.33)] совершенно различно, механизм их действия одинаков. Основанием для этого утверждения служит тот факт,

что оба вещества оказывают бактерицидное действие только в присутствии железа, причем антагонистом их антибактериальной активности служит кобальт; кроме того, в каждом случае бактерицидный эффект обращается избытком самого вещества [45]. Безвредность омадина в отсутствие железа показана в табл. 42.

Таблица 42

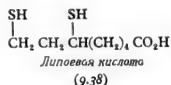
Нетоксичность N-окиси 2-меркаптопиридина  
в средах, не содержащих железа <sup>1)</sup> [45]  
(Тест на бактерицидность в воде,  
дистиллированной в стекле)

Величина, обратная концентрации N-окиси 2-мерка- птопиридина в молях	Fe <sup>3+</sup>	Рост (через 1 час)
80 000	0	+++
0	80 000	+++
80 000	80 000	—

<sup>1)</sup> Опыты проводились на *Staphylococcus aureus*  
(рН 6 — 7; 20°)

+++ означает обильный рост с большим числом ко-  
лоний, не поддающимся подсчету; — означает, что замет-  
ного роста нет.

Омадин (9.36), известный также под названием 1-оксипиридинтион-2, применяется в качестве фунгицида в виде мазей и мыл, а также в промышленности, где он используется, также как фунгицид, для обработки тканей, охладительных систем и для добавления в смазочные масла.



Диметилдитиокарбаминовая кислота, или ДМДК (9.15), является активным фунгицидом; в сельском хозяйстве он применяется в виде натриевой соли (Na ДДК) и в виде комплексов с железом (фермат или фербам) и цинком (церлат или цирам). Формула (9.14) изображает комплекс с медью состава 1 : 1. На основании того, что было известно об оксине (см. выше), норвежский ученый Гоксеир [584] сделал вывод, что ДМДК и ее комплексы активны именно в этой форме. Его работа была продолжена в Голландии [1323]. В табл. 43 приведены некоторые результаты этих работ.

Из данных, приведенных в табл. 43, ясна необходимость меди для действия ДМДК на *Aspergillus niger*; железо оказалось неэффективным. Такая же закономерность отмечена для действия ДМДК на некоторые другие плесневые грибы [1322]. Из табл. 43 видно, что на активность решающим образом влияет соотношение металла и хелатообразующего агента, так же как и в случае оксина (см. табл. 38, а также [35]) и N-окиси 2-меркаптопиридина. Норвежские и голландские ученые считают, что наличие зоны отсутствия ингибирования (между 10 и 50 ч. на млн. ДМДК) объясняется крайне малой растворимостью комплекса 2 : 1 в воде. Третья зона, токсическая (при концентрациях выше 50 ч. на млн.), была приписана присущему самой ДМДК токсическому действию, не связанному с комплексообразованием [1323].

Таблица 43

Влияние меди на угнетение роста *Aspergillus niger* диметилдитиокарбаматом натрия (в течение 3 дней при 24°) [1322] 1)

Величина, обратная концентрации $\text{Cu}^{2+}$ в молях	Величина, обратная концентрации ДМДК-На в молях							
	контроль (ДМДК-На отсутствует)	700 000	280 000	140 000	70 000	28 000	14 000	7000
$\text{Cu}^{2+}$ отсутствует	+	+	+	+	+	+	+	+
83 000	+	+	+	+	+	+	+	+
25 000	+	+	—	—	—	±	+	+

1) Питательная среда: глюкоза, соли и витамины в воде, дистиллированной в стекле; pH 7.

Растворимость медного комплекса ДМДК состава 2 : 1 в воде равна  $0,01^{90}_{00}$ , чем и ограничивается проникновение его в клетку. Медный комплекс гомолога ДМДК, диэтилдитиокарбаминовой кислоты, также состава 2 : 1, растворим только до  $0,002^{90}_{00}$ . Он почти не действует на грибы [1322]. Было высказано предположение [1322], согласно которому действие ДМДК, оксина и N-окиси 2-меркаптопиридина определяется их способностью катализировать окислительное разрушение липоевой (тиоктовой) кислоты (9.38), являющейся важнейшим коферментом окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты [617]; было продемонстрировано накопление пировиноградной кислоты в присутствии этих ингибиторов.

Некоторые агрономы предпочитают употреблять комплексы ДМДК с цинком и железом; благодаря превосходным адгезивным свойствам эти комплексы удерживаются на растениях даже в течение длительных периодов дождей. Другие отдают предпочтение тетраметилтиоурамдисульфиду; этот дисульфид, получаемый путем окисления ДМДК, в полевых условиях медленно превращается снова в ДМДК. Еще одно производное тиокарбамата — динатриевая соль этилен-бис-дитиокарбаминовой кислоты (дитан), представляет собой фунгицид, действующий по совершенно иному механизму (гл. 2, разд. 4).

Тетраэтилтиоурамдисульфид, известный также под названиями дисульфирам и антабус, неактивен в отношении грибов. Его назначают внутрь в случаях пристрастия к алкоголю. Действие дисульфирама заключается в ингибировании альдегиддегидрогеназы в печени; это приводит к накоплению ацетальдегида в крови, что вызывает у больного болезненные ощущения. Альдегиддегидрогеназа не содержит металлов; весьма важными являются входящие в ее состав меркаптогруппы. Дисульфирам восстанавливается в тканях в диэтилдитиокарбаминовую кислоту [этильный аналог соединения (9.15)], которая обнаруживается в крови и моче [804, 913].

Антибактериальное действие койевой кислоты (9.9) — пирона, экстрагируемого из некоторых грибов, — усиливается катионами металлов [1506].

**Бацитрацин.** Действие этого полипептидного антибиотика на *Staphylococcus aureus* подавляется ЭДТА и восстанавливается двухвалентными ионами [13].

## 8. Хелатообразующие вещества, биологическое действие которых обусловлено не только хелатообразованием

Многие другие хелатообразующие агенты также находят широкое применение в медицине. Строение этих веществ таково, что они не могут не соединяться с тяжелыми металлами в тканях, однако механизм действия

их не настолько изучен, чтобы можно было утверждать, что их действие обусловлено исключительно хелатообразованием. Независимо от того, в какой степени механизм их действия определяется хелатообразующей способностью, хелатообразование заслуживает дальнейшего изучения ввиду его возможной роли в таких процессах, как всасывание и возникновение побочных эффектов.

Таблица 44

Физические свойства гидразидов и их противотуберкулезное действие [26]

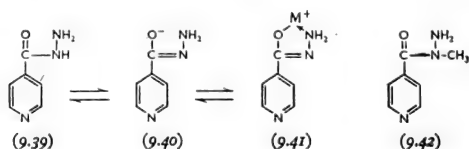
Гидразид	$pK_a$ гидразидной группы	log константы $\beta$ устойчи- вости комплекса (1 : 1) со следующими металлами				Сравнительная активность против <i>Mycobacterium</i> <i>tuberculosis</i> H37Rv	
		Cu <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	in vitro	in vivo
Изоникотиновой кислоты <sup>1)</sup>	10,77	8,0	5,5	4,8	5,4	1	1
Никотиновой кислоты <sup>1)</sup>	11,47	8,7	6,0	5,4	?	0,001	—
Пикотиновой кислоты <sup>1)</sup>	12,27	12,4	10,7	9,6	8,4	0,017	—
Бензойной кислоты	12,45	9,0	6,3	?	?	0,002	—
Циануксусной кислоты	11,17	8,5	6,0	5,3	?	0,008	0,2

<sup>1)</sup> Эти три вещества представляют собой изомеры. Они содержат гидразидную группу в положениях 4, 3 и 2 соответственно.

<sup>2)</sup> Константы устойчивости некоторых комплексов состава 2 : 1 см. у Альберта [26].

**Изониазид** (9.39) — гидразид изоникотиновой кислоты — составляет одно из наиболее важных средств современной терапии туберкулеза. Его сродство к ионам тяжелых металлов того же порядка, что и у глицина. Комплексы изониазида (9.41) образуются из аниона, соответствующего формуле (9.40). Метильное производное изониазида N-метил-N-изоникотиноилгидразин (9.42) не образует анионов и фактически не обладает противотуберкулезной активностью [387, 388]. Так, если изониазид даже в такой низкой концентрации, как  $M/5\ 000\ 000$ , ингибирует *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. (in vitro, в присутствии 10% сыворотки), то N-метил-N-изоникотиноилгидразин неактивен в концентрациях ниже  $M/2000$ .

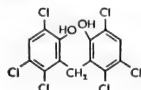
Действие изониазида нельзя полностью отнести за счет хелатообразования, поскольку ни один из его двух изомеров не проявляет сколькоско-нибудь заметной активности по отношению к *Mycobacterium tuberculosis* (даже in vitro), хотя константы устойчивости у них так же высоки или даже выше, чем у изониазида (табл. 44).



Было высказано предположение, что изониазид, проникнув в клетки микобактерий туберкулеза, окисляется в них в изоникотиновую кислоту, которая затем занимает место никотинамида в НАД [856]. Однако гидразид циануксусной кислоты, не являющийся производным пиридина, in vivo высокоактивен.



потенциометрического титрования было показано, что эти соединения образуют хелаты с  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ ; в связи с этим полагали, что указанная связь между строением (наличие мостика) и антибактериальной активностью этих бис-фенолов обусловлена их хелатообразующей способностью [8]. Родственное им по химическому строению вещество — дихлорофен, т. е. ди(5-хлор-2-оксифенил)метан, применяют при глистных инвазиях у человека.



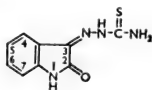
Тетсахлорофен  
(9.45)



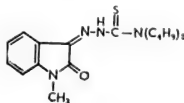
Салициловая кислота  
(дианион)  
(9.46)

Салициловая кислота в виде дианиона (9.46) является активным хелатообразующим агентом. Производные салициловой кислоты, например салициланид, салициламид и салициловый альдегид, неспособные образовывать карбоксильный ион, представляют собой гораздо более слабые хелатообразующие агенты. Константы устойчивости для салициловой кислоты и многих ее производных известны [1114]. Аспирин, у которого блокирована фенольная группа, не обладает хелатообразующей способностью, но в организме он довольно быстро гидролизуетс с образованием салициловой кислоты. Пока неизвестно, в какой степени терапевтический эффект салицилатов при различных формах ревматизма зависит от их хелатообразующей способности. Антибиотик антимицин имеет структуру 3-формамидосалициламида и прочно связывает ион трехвалентного железа [503].

**Противовирусные средства.** Тиосемикарбазоны типа тиацетазона (9.43) обладают также и противовирусными свойствами [643]. Эти свойства становятся намного более выраженными, если заменить бензольное кольцо 2-оксоиндольной группировкой [4421]. Так, изатинтиосемикарбазон (9.47), введенный мышам *per os* (два раза по 125 мг/кг) через несколько часов после



Изатинтиосемикарбазон  
(9.47)



(9.48)

заражения вирусом осповакцины в количествах, в тысячи раз превышающих  $\text{LD}_{50}$ , спасает всех животных от гибели. Было высказано предположение, что биологическое действие этого препарата и его производных объясняется образованием хелата, в котором металл удерживается между кислородом и вторым атомом азота боковой цепи [1082]. Против некоторых других вирусов оспы более эффективными оказались высшие гомологи изатинтиосемикарбазона. Так, например, при введении мышам (интрацеребрально в количестве, в тысячу раз превышающем  $\text{LD}_{50}$ ) вируса *variola vera*, наиболее вирулентного из вирусов, вызывающих оспу, для 100%-излечения (все животные остались живыми) потребовалось 25 мг/кг изатинтиосемикарбазона и всего по 10 мг/кг его 1- или 7-метилзамещенных гомоло-

гов [125]. Клиническая проверка показала, что этот препарат эффективен также против вируса осповакцины [1443].

Самым крупным достижением в профилактике оспы со времен Дженнера считают использование метизазона (марборана), т. е. 1-метилизатинтиосемикарбазона, пригодного для приема внутрь. Во время эпидемии оспы в Мадрасе этот препарат был применен в 1100 случаях непосредственного контакта с оспой. Только в трех из них возникло заболевание в легкой форме, тогда как в контрольной группе контактов из 1100 человек заболело 78 и погибло 12. Препарат оказался эффективным даже в тех случаях, когда инкубационный период зашел настолько далеко, что проводить вакцинацию было слишком поздно [127]. Однако в случаях уже развившейся инфекции препарат неэффективен.

Если оба атома водорода в концевой аминогруппе изатинтиосемикарбазона заместить метильными группами, то активность в отношении вируса осповакцины полностью исчезает, но препарат приобретает высокую активность против вируса мышиной оспы (экстремели) [126].

Энтеровирусы, которые во многом отличаются от вирусов оспы, и прежде всего тем, что содержат не ДНК, а РНК, инактивируются теми гомологами изатинтиосемикарбазона, которые обладают сильно выраженными липофильными свойствами. Так, например, тип 2 вируса полиомиелита избирательно инактивируется в культуре ткани 1-метил-4', 4'-дибутилиизатинтиосемикарбазоном (9.48) [126].

Механизм действия изатинтиосемикарбазона (9.47) в какой-то мере был раскрыт в результате наблюдения вируса осповакцины в клетках HeLa; было обнаружено, что препарат ингибирует образование новых вирусных частиц. На более ранние стадии — репликацию вирусной ДНК и синтез мРНК — препарат не оказывает никакого действия [1576].

**Тетрациклины.** Тетрациклины представляют собой октагидронафтацены. Они играют очень важную роль в лечении общих бактериальных инфекций. В отличие от оксина действие тетрациклинов на бактерии развивается довольно медленно и не ускоряется в присутствии железа. Грибы почти нечувствительны к тетрациклинам. О механизме их действия известно лишь то, что они ингибируют синтез белков в бактериальных клетках (гл. 1, разд. 4,6). Биохимические причины резистентности млекопитающих и дрожжей к тетрациклинам не установлены.

Тетрациклин (9.49) и его производные — хлортетрациклин (ауреомидин) и окситетрациклин (террамицин), судя по их константам устойчивости, являются сильными хелатообразующими агентами [44]. Сродство этих тетрациклинов к двухвалентным металлам такое же, как и у глицина, но в отношении трехвалентных металлов ( $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Al}^{3+}$ ) оно значительно выше. С этими металлами тетрациклины легко образуют комплексы состава 3 : 1. Константы устойчивости тетрациклина приведены в табл. 33.

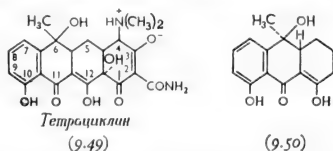
Молекула тетрациклина представляет собой цвиттерин, в котором оксигруппа в положении 3 имеет  $\text{pK}_a$  3,3 (она представляет собой часть трикарбонилметановой системы, см. ниже). Остальные значения  $\text{pK}_a$  (7,8 и 9,6) отражают одновременную диссоциацию: а) диметиламиногруппы и б) системы фенол- $\beta$ -дикетон (положения 10, 11 и 12) [796, 894; 1198, 1371]. Такая одновременная диссоциация двух групп, у которых значения  $\text{pK}_a$  отличаются менее чем на две единицы, известна для цистина [458].

Результаты потенциометрического титрования в присутствии ионов тяжелых металлов показывают, что никакого хелатообразования не происходит до тех пор, пока группа, имеющая  $\text{pK}_a$  3,3, не будет полностью ионизована, причем это происходит параллельно с ионизацией других групп.

Было замечено, что кальций образует с тетрациклом и хлортетрациклином устойчивые комплексы, но не реагирует с изохлортетрациклином, неактивным в качестве антибактериального агента — соединением, у кото-



рого отсутствует енольная система  $C_{11} - C_{12}$ . Отсюда было сделано заключение, что  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  соединяются именно с этим участком молекулы [437]. Предположение, согласно которому тяжелые металлы связываются с диметиламиногруппой, очень интересно, но нуждается в доказательствах [437],



хотя, действительно, более легкие металлы при образовании хелатов предпочитают соединяться с атомами кислорода (см. фиг. 57 и соответствующее место в тексте).

Те же авторы [437] обнаружили, что все обладающие терапевтической активностью тетрациклины образуют комплексы состава 2 : 1 (с  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ ). По-видимому, в смешанных комплексах, в которых металл связан одновременно с тетрациклином и с белком или нуклеиновой кислотой, молекулы активных тетрациклинов приобретают геометрию, устраняющую стерические препятствия. В то же время терапевтически неактивные тетрациклины образуют только комплексы состава 1 : 1.

Данные, на которых основывается предположение, согласно которому терапевтическая активность тетрациклинов связана с хелатообразованием, являются в какой-то мере косвенными. Так, действие тетрациклинов направлено главным образом на рибосомы, которые, как известно, содержат большое количество магния (гл. 1, разд. 4.6). Далее, ингибирующее действие тетрациклинов на дыхание, гликолиз и размножение *E. coli* можно снять ионами магния в концентрации, в 50 000 превышающей концентрацию антибиотика. Ионы никеля, кобальта и цинка образуют более прочные связи с тетрациклинами, чем ионы магния, и в отличие от последних не снимают действия этих антибиотиков [1505]. Образование хелатных комплексов с марганцем, по-видимому, играет роль в бактерицидном (в противоположность бактериостатическому) действии тетрациклинов.

Анализ зависимости активности тетрациклинов от их структуры показывает, что различные изменения в положениях 5, 6 и 7 [см. формулу (9.49)] не снижают антибактериальную активность [943], которая, однако, резко снижается при замене группы  $-(H_3C)_2N$  в положении 4 на водород и группы  $-CONH_2$  в положении 2 на группу  $-CN$ . Таким же образом влияют на активность различные конфигурационные изменения в неароматических кольцах, которые приводят к изменению конфигурации всей молекулы.

Простейшее соединение, обладающее антибактериальным тетрациклиноподобным действием,— это ДСВ-трициклин Шемякина (9.50), т. е. 9-метил-1,8,9-триоксо-10-оксо-2,3,4,4а,9,10-гексагидроантрацен [839]. По своему действию на *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* и *Mycobacterium phloei* это соединение приблизительно в 20 раз слабее тетрациклина. По-видимому, вполне можно было бы удалить метильную и гидроксильную группы, находящиеся в положении 9, так как соответствующие заместители в тетрациклинах, как известно, не вносят никакого вклада в их антибактериальную активность.

Было сделано предположение, что биологическая активность тетрациклинов в известной мере зависит от наличия трикарбонилметановой группировки в положениях 1, 2, 3 [1261, 1445]. Многие трикарбонилметаны, обычно 1,3-диоксо-2-ацилциклогексаны, встречаются в природе; к ним

относятся, например, антигельминтные препараты из мужского папоротника и кетоны хмеля, которые вызывают в процессе пивоварения гибель всех бактерий, не влияя на рост дрожжей [655, 656]. Эти трикарбонилметаны обладают хелатообразующими свойствами, но константы устойчивости для них не определены.

Описано накопление тетрациклина в костях в виде тетрациклината Са при применении тетрациклинов в случаях, когда в организме происходит интенсивный процесс образования костной ткани [168].

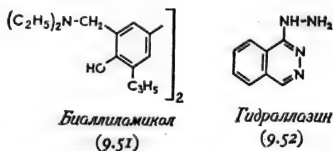
Известно, что биаллиламикол (камоформ) (9.51), который оказался эффективным средством при амебиазе [256, 1419], способен образовывать хелаты.

**Гормоны.** Сильными хелатообразующими свойствами обладают тироксин (9.11), гистамин (9.12), норадреналин (9.13) и адреналин (эпинефрин). В табл. 33 приведены константы устойчивости для гистамина. Металл связывается с одним из атомов азота ядра и боковой цепью. У «катехоламинов» [(например, (9.13)] связывание металла происходит за счет двух кислородных атомов бензольного кольца (ср. с катехином,  $\log K_1 \cong 14,3$  для  $\text{Cu}^{2+}$ , и этаноламином, для которого  $\log K_1 \cong 4,0$ ). Было высказано предположение, что ионы меди, концентрирующиеся в нервных окончаниях и в их синаптических пузырьках, ответственны за поглощение и накопление здесь адреналина. Некоторые данные потенциометрического титрования свидетельствуют о том, что медь связывается одновременно с норадреналином и аденозинтрифосфатом [334].

Как полагают [143], образование такого тройного комплекса (норадреналин —  $\text{Mg}$  — АТФ) составляет первую стадию действия этого гормона (выделение энергии).

Некоторые исследователи предполагают, что кортизон также обладает хелатообразующей способностью, но никаких доказательств на этот счет до сих пор получено не было.

**Гидралазин** (9.52). Обнаружено, что многие металлсвязывающие агенты обладают гипотензивным действием, не опосредованным через нервную систему. К таким агентам относятся азид натрия, тиоцианат натрия, нитропруссид натрия, димеркаптопропанол (9.12) и гидралазин. Из всех этих веществ только гидралазин нашел применение при сердечно-сосудистых заболеваниях [1282].



Предполагают, что при гипертонии хелатообразующие агенты гипотензивного действия блокируют ферменты, которые декарбоксилируют аминокислоты с образованием прессорных аминов типа тирамина (он возникает при декарбоксилировании фенилаланина). Так, было обнаружено, что гидралазин ( $10^{-4} M$ ) уменьшает вдвое скорость декарбоксилирования диоксифенилаланина в почках морской свинки, тогда как этилендиамин-тетрауксусная кислота, оксин-5-сульфокислота или азид натрия никакого влияния на этот процесс не оказывают. Окисление триптамина в почках, представляющее собой пример естественного разрушения прессорного амина, сильно и специфично ускоряется ванадием [1129].

Распространенное мнение, согласно которому регуляторы роста растений, например индолил-3-уксусная кислота, осуществляют свое физиологическое действие посредством хелатообразования, было опровергнуто, после того как удалось доказать, что эти вещества не имеют хелатообразующих свойств [1116].

### *9. Основные принципы изыскания новых хелатообразующих соединений. Перспективные области применения*

При изыскании новых агентов прежде всего нужно иметь в виду, что большинство хелатообразующих веществ лишено биологической активности. Например, среди обычно применяющихся для аналитических целей металл-связывающих агентов лишь немногие обладают антибактериальным действием [49, 1281].

Ни один хелатообразующий агент не может обладать активностью в биологической среде, если его константы устойчивости по меньшей мере не столь же высоки, как константы обычных аминокислот, например глицина (табл. 33). Однако мало пользы, по-видимому, и от веществ с очень высокими константами устойчивости, так как их насыщение металлом произойдет прежде, чем они достигнут места действия. В некоторых случаях должна иметься возможность хотя бы умеренного обмена катионов [1283].

В действительности известно лишь немного веществ с очень высокими константами устойчивости. Многие из них представляют собой полидентатные лиганды, которые не годятся для практического использования там, где требуется, чтобы металл оставался частично ненасыщенным для того, чтобы быть в состоянии соединиться с метаболитом.

В процессе исследования необходимо установить, желательно ли проникновение вещества в клетку или, напротив, его следует избегать. Если оно желательно, то в молекулу нужно ввести липофильные группы. Для этой цели могут служить атомы углерода, галогенов, водорода и серы; атомы азота и кислорода придают гидрофильные свойства. Контроль может производиться по величине коэффициентов распределения в системе масло/вода. Для повышения способности проникать в клетку в комплексы типа тех, которые образует этилендиамин (фиг. 52), в которых металл сохраняет первоначальный заряд, требуется ввести больше липофильных атомов, чем в незаарженный комплекс. Дипиридил и *o*-фенантролин (оба они образуют комплексы того же типа, что и этилендиамин), по-видимому, обладают необходимым соотношением гидрофильных и липофильных свойств по крайней мере для одного типа мембран: они способны проникать через кожный покров червей и парализовать их нервно-мышечный аппарат [98].

Легко проникает в клетки оксин. В табл. 41 показано влияние гидрофильных, а также липофильных групп, введенных в молекулу оксина. Как видно из данных, приведенных в этой таблице, даже небольшие изменения в строении молекулы могут вызывать значительные сдвиги в величинах коэффициентов распределения. Например, введение в кольцо оксина лишнего атома азота, т. е. образование 3-азаоксина (8-оксихиназолина), резко усиливает гидрофильность (коэффициент распределения в системе масло/вода снижается с 67 до 5). Присоединение боковой цепи, состоящей всего из трех атомов углерода (пропильная группа), возвращает коэффициенту распределения его прежнюю величину. Облегчить проникновение лекарственных препаратов в клетки можно и по-другому, а именно используя лиганды, сходные с природными субстратами, например аминокислотами и углеводами.

Выше, в разд. 4 были рассмотрены стерические и другие химические различия которые могут способствовать избирательности.

Многие биологически активные хелатообразующие агенты непригодны для приема внутрь просто потому, что не обладают достаточной избирательностью. Например, нужно соблюдать крайнюю осторожность с такими металлсвязывающими веществами, как диметилдитиокарбамат натрия и оксин, так как они повреждают островки Лангерганса и вызывают диабет у подопытных животных [790, 791].

Очевидно, что путем модификации веществ, уже нашедших применение (например, тетрациклин), можно получить многочисленные новые хелатообразующие агенты. При этом имеется много путей их использования в совершенно новых областях химиотерапии. Так, например, путем парентерального введения различных медных комплексов, особенно 0,002%-ного раствора диметилглиоксима меди [1404, 1405], предупреждали развитие у мышей двух перевиваемых злокачественных опухолей (карциномы Эрлиха и саркомы Крокера 180). L-пеницилламин при внутреннем применении также вызывает регрессию опухолей у мышей [920]. *бис*-Тиосемикарбазон 3-кето-3-этоксипутиральдегида, активный хелатообразующий агент, угнетает рост саркомы у грызунов в присутствии меди [147].

Дегенеративные заболевания сердечно-сосудистой системы у людей связаны с повышенным синтезом холестерина из уксусной кислоты. Было доказано, что этот синтез ускоряется (у крыс) марганцем и замедляется ванадием или железом. Оксин, добавляемый в пищу в количестве 0,1% в течение 10 дней, уменьшает включение ацетата в холестерин, очевидно, за счет образования хелатных комплексов с марганцем [381].

Выше мы уже говорили о том, что одинаковое действие некоторых веществ, имеющих разное строение, на изолированное сердце можно объяснить, если рассматривать все эти вещества как средства, транспортирующие ионы кальция в клеточные мембраны. Ионы кальция уплотняют структуру мембраны, и, следовательно, ее функция восстанавливается [1257]. К этим веществам относятся катехоламины, простагландины, нуклеотиды, гематоксиллин и природные флавоноиды — рутин и кверцетин. Санти и сотр. [1257] считают, что имеет смысл заняться поисками таких веществ, способных избирательно транспортировать кальций, ибо эти вещества оказываются эффективными при аллергии, атеросклерозе, гипокальциемической спазмофилии, нефрозах, атониях матки при родах, мышечной гипотонии и паралитической непроходимости кишечника.

К другим интересным направлениям в этой области исследований относятся поиски новых методов детоксикации и обеззараживания тканей с помощью металлов, регулирование содержания меди в белках при различных заболеваниях, борьба с хелатообразованием как причиной кариеса зубов и предотвращение потерь кальция из костной ткани в старости — потеря, которые, по-видимому, служат причиной многих проявлений старения.

### Введение

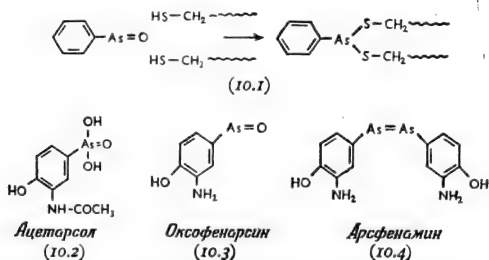
Большинство биологически активных соединений образуют с рецепторами очень непрочные легко разрывающиеся (даже при отмывании) связи. Существуют, однако, немногочисленные агенты, которые при взаимодействии с рецепторами образуют ковалентную, т. е. прочную связь, способную к длительному существованию (гл. 5, разд. 1). Ковалентные связи, образуемые атомами углерода, разрываются только в результате воздействия высоких температур или очень агрессивных химических реагентов, и лишь немногие из них чувствительны к воздействию мягких реагентов и температур, при которых могут протекать жизненные процессы.

Из явлений, сопровождающихся образованием ковалентных связей, одно уже было рассмотрено ранее,— это превращение предшественников (гл. 2, разд. 4) в истинные (активные) лекарственные вещества. Далее ферменты в клетках катализируют образование и разрыв многочисленных ковалентных связей в ходе нормальных метаболических превращений, а также в процессе разложения чужеродных веществ (гл. 2, разд. 3). В настоящей главе, однако, речь пойдет только об образовании ковалентных связей между лекарственным агентом и определенной химической группировкой в процессе их взаимодействия, которым и обуславливается биологический эффект. Прежде всего будут рассмотрены ковалентные связи, образующиеся между металлами (или неметаллами) и серой, входящей в состав сульфгидрильных групп. Далее речь пойдет об алкилирующих, а затем об ацилирующих агентах. И, наконец, будут рассмотрены вещества, способные включаться в состав жизненно важных компонентов клеток.

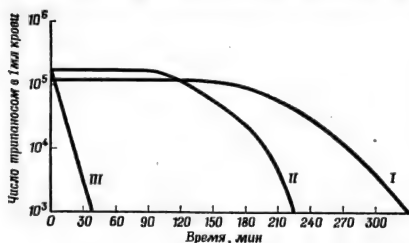
### 1. Производные мышьяка, сурьмы и ртути

Для препаратов мышьяка раньше всех остальных лекарственных средств была установлена зависимость действия от способности к образованию ковалентных связей. Эрлих [463] высказал предположение, что некоторые производные мышьяка взаимодействуют с жизненно важными меркаптогруппами (синонимы: сульфгидрильные группы, тиольные группы, SH-группы) в организме паразита. Известно, что арсеноксиды с величайшей легкостью, даже в присутствии большого количества воды, вступают во взаимодействие с сульфгидрильными группами (10.1). Именно этот механизм действия для производных мышьяка представляется крайне вероятным, поскольку это единственная реакция, в которую они способны вступать в биологических системах. Три степени окисления мышьяка представлены ниже [(10.2), (10.3), (10.4)]. Первое из этих соединений представляет собой производное пятивалентного мышьяка, во втором и третьем (арсеноксид и арсенобензол) мышьяк трехвалентен. Мышьяк в каждой из этих форм входит во многие лекарственные препараты. Эрлих, который в свое время обнаружил, что производные пятивалентного мышьяка в организме превращаются в соответствующие арсеноксиды, лишь после этого приобретая активность, даже не предполагал, что активность арсенобензолов также обусловлена их способ-

ностью окисляться с образованием арсеноксидов. В период между 1920 и 1925 гг. Фегтлин с сотр. [1465] удалось многое выяснить в механизме действия производных мышьяка.



Фегтлин доказал, что терапевтическую активность обнаруживают только производные арсеноксидов. На фиг. 59 можно видеть, что в присутствии оксофенарсина (10.3) содержание трипаносом в крови крыс резко снижается через 0,5 час после введения, тогда как с помощью арсфенамина (10.4) (соответствующего ему арсенобензола) подобный эффект достигается более чем



Фиг. 59. Паразитоцидное действие арсфенамина (I), оксофенарсина (II) и оксофенарсина совместно с восстановленным глутатионом (III) на крыс, инфицированных трипаносомами [1465].

через 5 час. Это означает, что арсфенамин, прежде чем начать действовать, должен превратиться в более активное соединение. Фегтлин, далее, показал, что если арсфенамин перед введением окислить в арсеноксид (оксофенарсин), пропуская в раствор в течение нескольких минут воздух и встряхивая его, то обнаруживается характерный для арсеноксидов быстрый эффект. То же самое наблюдается при инкубации арсфенамина в присутствии тканей, способных его окислить, например со свежей тканью печени.

На фиг. 59 видно также, что соединения, содержащие сульфгидрильные группы, например, глутатион, цистеин или натриевая соль иогликолевой кислоты, действуют как антагонисты арсеноксидов. Эффект этот оказывается кратковременным, если количество тиола невелико, так как продукт взаимодействия арсеноксидов с меркаптопроизводными легко гидролизуются с образованием исходных компонентов. В присутствии избытка тиольного соединения эффект оказывается более длительным (в соответствии с законом действия масс).

Результаты этих исследований побудили Фегтлина проверить выдвинутую в свое время Эрлихом [463] гипотезу о механизме действия арсеноксидов; согласно гипотезе Эрлиха, арсеноксиды взаимодействуют с серой в орга-

низме паразита. Феттлин показал, что в клетках трипаносом содержатся свободные сульфгидрильные группы: они дают положительную нитропруссидную реакцию и другие тесты на сульфгидрильные группы. Гопкинс ранее установил, что сульфгидрильные группы играют важную роль во всех процессах жизнедеятельности клетки. Известно, например, что многие ферменты инактивируются в результате блокирования содержащихся в них тиольных групп.

Легко убедиться в том, что токсическое действие органических мышьяк-содержащих препаратов на трипаносомы связано с их способностью блокировать жизненно важные сульфгидрильные группы в организме паразита. Каких-либо других химических грушишпировок, способных реагировать с арсеноксидами, в организмах паразитов обнаружить не удалось; в то же время содержание сульфгидрильных групп в трипаносомах очень велико, и циркулирующие в кровяном русле хозяина молекулы арсеноксида неизбежно должны вступать с ними во взаимодействие. Следует, однако, иметь в виду, что реакция эта частично обратима, поэтому паразиты, подвергшиеся действию нескольких летальных доз препарата мышьяка, могут все-таки выжить, если вслед за этим будут обработаны избыточным количеством вещества, содержащего большое число тиольных групп. Совершенно очевидно, что в организме инфицированного паразитами животного лекарственное вещество — производное арсеноксида распределяется между SH-группами как хозяина, так и паразита, и распределение это находится в состоянии динамического равновесия.

В состав каких соединений входят эти жизненно важные — SH-группы в организме паразита? Вначале Феттлин предполагал, что речь может идти о глутатионе, но позднее пришел к выводу, что эти сульфгидрильные группы входят в состав белков [1225]. В пользу последнего предположения свидетельствует наличие в ферментах (даже выделенных и очищенных) — SH-групп, которые эффективно блокируются арсеноксидами и могут быть защищены от действия последних другими соединениями, содержащими сульфгидрильные группы в молекуле [430]. Из всех известных ферментов наиболее чувствительны к действию мышьяк-содержащих препаратов дегидрогеназа липоевой кислоты и оксидазы  $\alpha$ -оксокислот, использующие липоевую кислоту в качестве кофермента. В молекуле дегидрогеназы липоевой кислоты присутствуют два остатка цистеина, расположенные в разных цепях, но сближенные за счет свертывания молекулы (третичная структура) [977]. Оказалось, что мышьяк-содержащие соединения блокируют сульфгидрильные группы цистеина так, как это показано на схеме (10.1). Что же касается оксидазы  $\alpha$ -оксокислот, коферментом которой служит липоевая (6,8-димеркаптоацриловая) кислота, то молекулы этой последней легко сшиваются мостиком из атомов мышьяка (10.1) [1134].

Необходимо выяснить, каким же образом получается так, что препараты мышьяка поражают паразитов, не причиняя при этом вреда хозяину, хотя сульфгидрильные группы имеют жизненно важное значение для обоих. Обнаружено, что несколько ферментов трипаносом, в частности фосфошируваткиназа, крайне чувствительны к действию препаратов мышьяка, тогда как соответствующие ферменты млекопитающих в значительно меньшей степени затрагиваются действием этих соединений [606, 607].

Далее, избирательность действия очень сильно зависит от структуры молекул лекарственного вещества. Неорганические и алифатические производные мышьяка не менее токсичны для трипаносом, чем ароматические, но все они, за исключением немногочисленных ароматических производных мышьяка, оказались настолько токсичными для млекопитающих, что возможность их использования в качестве избирательно действующих токсических агентов полностью исключается. Совершенно ясно, что избирательная способность этих соединений связана с ароматической структурой коль-

ца (бензольного) и характером заместителей в этом кольце. Этот вывод был подтвержден исследованиями устойчивости к лекарственным веществам (гл. 3, разд. 5), результаты которых заставляют предполагать, что в данном случае все дело, по-видимому, в избирательной адсорбции. В этой области многое еще надлежит сделать.

Работы Фетлина были продолжены его коллегами Иглом [449] и Розенталем [1224]. В настоящее время уже известно, что на спирохеты препараты мышьяка действуют точно так же, как на трипаномы. Независимо от валентности мышьяка в молекуле лекарственного вещества оно связывается с сульфгидрильными группами паразита лишь после того, как превратится в соответствующий арсеноксид. Обзор литературы, посвященной проблеме зависимости между строением и избирательным действием производных мышьяка, принадлежит Иглу [451].

Теперь настало время попытаться выяснить вопрос, почему связь As — S так легко разрывается при действии цистеина и других соединений, содержащих —SH-группы. Атом мышьяка в отличие от атомов азота, углерода и кислорода имеет вакантную *d*-орбиталь, на которую может переходить неподеленная пара электронов от атома серы цистеина. Это приводит к образованию переходного комплекса более высокой валентности, в котором три атома серы связаны с одним атомом мышьяка. Такой комплекс неустойчив, причем для каждой из трех связей As — S вероятность разрыва примерно одинакова. Так, вероятность того, что вновь образовавшаяся связь сохранится, составляет 33%. Если цистеин имеется в избытке и условия таковы, что взаимодействие с цистеином продолжается достаточно долго, то вскоре количество мышьякосодержащего препарата, еще связанного с рецептором (в соответствии с законом действия масс), окажется незначительным. Как известно, аналогичная ситуация создается при действии воды на тетрахлорид кремния, который при этом быстро гидролизует, так как атом кремния имеет вакантную *d*-орбиталь. В отличие от этого тетрахлорид углерода представляет собой устойчивое соединение, так как у атома углерода вакантной *d*-орбитали нет.

Токсическое действие производных мышьяка, применяемых для военных целей, также связано с их способностью образовывать ковалентные связи с —SH-группами. Дихлорпроизводные мышьяка, которые получают путем хлорирования арсеноксидов, с особой легкостью реагируют с тиолами. Люизит ( $\text{ClCH} = \text{CHAsCl}_2$ ), обладающий наиболее выраженным в этом ряду соединений кожно-нарывным действием, вызывает в организме человека необратимые повреждения, которые не могут быть сняты никаким моноитолом. В результате исследований, проводившихся в Оксфорде начиная с 1923 г., было установлено, что поражение кожи, вызываемое люизитом, его быстро развивающееся токсическое действие, объясняется его способностью блокировать сульфгидрильные группы фермента пируватоксидазы [1132, 1133]. Поражения, вызванные люизитом, можно полностью снять с помощью дитиольных соединений, у которых —SH-группы расположены в непосредственной близости одна от другой [1135]. Таким образом, даже очень прочная связь с —SH-группами может быть разрушена с помощью очень активного антидота. Преимущество дитиолов связано с тем, что даже если одна из связей временно разрывается, например под влиянием теплового возбуждения, то другая всегда остается. Впоследствии оказалось, что лучший антидот из всех этих дитиолов — 2,3-димеркаптопропанол (9.25), известный также под названием БАЛ, или димеркапрол; он может служить превосходным противоядием при отравлениях мышьяком (см. гл. 9, разд. 6).

Помимо мышьякосодержащих и ртутьсодержащих соединений, существуют и другие, способные инактивировать SH-группы. К ним относятся окислители (например, иод), алкилирующие агенты (в частности, иодацетамид), арилирующие соединения (в частности, хиноны и хинонимины) и аль-



дегиды. Некоторые исследователи пытались показать, что тот же механизм лежит в основе действия целого ряда природных соединений, таких, как клавацин, пеницилловая кислота, гексенолактон (содержится в солоде, дрожжах и кожуре апельсина) и пиоцианин. Несмотря на то что токсическое действие этих соединений снимается тиолами, они не обладают *избирательностью* и поэтому сравнение их с ароматическими мышьяксодержащими препаратами лишено смысла.

До 1944 г. господствовало мнение, что препараты мышьяка на обычные патогенные бактерии не действуют. Это ошибочное представление возникло потому, что степень окисления производных мышьяка, которые использовались в опытах, была неподходящей. После того как это обстоятельство было учтено, выяснилось, что многие препараты мышьяка обладают выраженной антибактериальной активностью [34]. Из данных, приведенных в табл. 45, видно, что бактериостатическим действием обладают производные арсеноксидов и, далее, что микроорганизмы способны в незначительной степени осуществлять превращение производных арсенобензола (но не производных пятивалентного мышьяка) в соответствующие арсеноксиды. Показано, кроме того, что противобактериальная активность арсеноксидов подавляется при действии тиогликолята натрия.

Таблица 45

Действие органических препаратов мышьяка на бактерии<sup>1)</sup>  
(пределы разбавления, при которых еще наблюдается полное  
ингибирование роста в течение 48 час при 37°) [34]

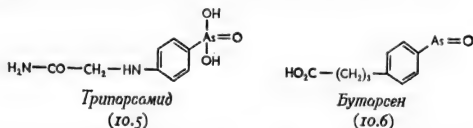
Вещества	Микроорганизмы				
	<i>Cl. welchii</i>	<i>Str. hemolyticus</i> A	<i>Staph. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Proteus</i>
Ацетарсол (м-ацетаминно- л-оксифениларсеновая кислота)	*	*	*	*	*
Оксофенарсин (м-амино- л-оксифениларсен- оксид)	1 : 160 000	1 : 80 000	1 : 160 000	1 : 10 000	1 : 10 000
Нсоарсфенамин (м-амино- л-оксарсенобензол-N- метилсульфоксидат)	1 : 10 000	1 : 10 000	1 : 10 000	*	*
Оксофенарсин в бульоне, содержащем 0,1% тио- гликолята	1 : 5000	1 : 10 000	*	*	*
Хлористая ртуть (для сравнения)	1 : 40 000	1 : 160 000	1 : 40 000	1 : 80 000	1 : 80 000

1) Среда: бульон с пентоном, содержащий 10% сыворотки; pH 7,2.

\* — ингибирующая активность отсутствует даже при концентрации 1 : 5000 [34].

В связи с тем что Эрлих считал арсеноксиды слишком токсичными, сифилис в течение четверти века лечили излишне большими дозами мышьяка, который вводился в виде арсфенамина (сальварсана) и других производных арсенобензола. Лишь незначительная часть огромных доз этих соединений, введенных в организм, превращалась в эффективные арсеноксиды. Основное же количество препарата вступало в нежелательные, иногда опасные побочные реакции. Впоследствии было показано, что оксофенарсин, т. е. соответствующий сальварсану арсеноксид, безопаснее для больных, чем сальварсан [1412], несмотря на то что сам по себе оксофенарсин более токсичен. Дело в том, что паразит гораздо чувствительнее к этому препарату, чем макроорганизм, и для лечения можно применять малые дозы. Таким образом,

удалось излечивать сифилис безопасными для человека дозами препарата мышьяка (*m*-амино-*p*-оксифениларсеноксида) (10.3) (мафарсена). В настоящее время для лечения сифилиса применяют пенициллин, но в случаях, не поддающихся терапии пенициллином, все же проводят лечение оксофенарсином, в некоторых случаях в комбинации с висмутом, который, как предполагают, действует аналогичным образом. В медицинской практике в настоящее время используются и другие препараты мышьяка, например ацетарсол (10.2), применяемый местно при инфекциях, вызванных *Trichomonas vaginalis*; трипарсамид (10.5), оказавшийся эффективным при запущенных формах трипаносомоза (он способен проникать через гемато-энцефалический барьер, несомненно, в качестве аналога фосфорной кислоты); бутарсен (10.6), средство, эффективное на ранних стадиях этого же заболевания.



**Препараты сурьмы.** Предполагается, что в основе противопаразитарного действия органических препаратов сурьмы также лежит взаимодействие с жизненно важными сульфгидрильными группами в организме паразита. При шистосоматозе — заболевании, при котором препараты сурьмы (эффективные в весьма малых дозах) применяются до настоящего времени, по-видимому, происходит взаимодействие  $\text{Sb}^{3+}$  с сульфгидрильными группами, входящими в состав фосфофруктокиназы глистов; в то же время у макроорганизма этот фермент настолько отличен, что заметным образом с сурьмой не реагирует. Поскольку для этих паразитов основным источником энергии служит гликолиз, оборачиваемость (число оборотов) фосфофруктокиназы имеет определяющее значение; при ингибировании накапливается субстрат фруктозо-6-фосфат [252].

**Препараты ртути.** Антибактериальная активность таких соединений ртути, как хлористая ртуть (сулема) и нитрат фенолртути, объясняется их способностью связываться с жизненно важными — SH-группами бактерий [518]. Однако их действие обращается тиолами типа тиогликолевой кислоты и даже сероводородом [311].

Все органические препараты ртути, обладающие мочегонным действием, легко расщепляются в почках под действием кислой среды с образованием небольшого количества ионов ртути. Имеются данные, указывающие на то, что именно эти ионы и являются истинными диуретиками [1507]. Принято считать, что диурез, вызванный соединениями ртути, является результатом блокады фермента, содержащего в своем активном центре сульфгидрильную группу.

## 2. Пенициллин и другие соединения с тем же типом действия

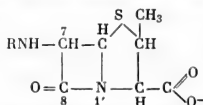
Бактерии резко отличаются от всех остальных живых существ необычностью химического состава своих клеточных оболочек (гл. 1, разд. 3, а). Один из самых характерных компонентов бактериальной оболочки — ацетилмурамовая кислота (1.1), связанная с полипептидами типа (1.3). Действие пенициллина на бактерии состоит в блокировании включения ацетилмурамовых пептидов (10.12) в состав новых клеточных оболочек [1219]. Для подавления синтеза мукопептидов у бактерий требуются концентрации лекар-

ственных веществ в 2—3 раза меньше, чем для ингибирования роста этих же бактерий (это справедливо как для грамотрицательных, так и для грамположительных бактерий).

Для бактерий характерно высокое внутреннее давление. Гибель бактерий, находящихся в фазе *роста*, под действием пенициллина наступает от того, что они лопаются: ослабленные оболочки не выдерживают высокого давления. Однако эти оболочки не разрываются при помещении бактерий в среду с высоким осмотическим давлением, состоящую из вещества, неспособного проникать внутрь бактерий (например, в 0,3 *M* раствор сахарозы). Механизм лизиса бактерий под влиянием пенициллина был детально изучен Ледербергом [890] на *E. coli*. Позднее аналогичные результаты были получены и на других микроорганизмах. По всей вероятности, разрушение бактериальных оболочек в присутствии пенициллина происходит под действием фермента мукопептидазы, которая имеется почти у всех видов бактерий. В тех случаях когда биосинтез этого фермента подавлен хлорамфениколом, эффективность пенициллина оказывается очень заметно сниженной [1218]. В обычных терапевтических концентрациях пенициллин на синтез белка не влияет.

Оксацилин (гл. 6, разд. 4), ванкомицин [309], новобиоцин и бацитрацин [2] также вызывают лизис бактерий, вмешиваясь в процессы синтеза компонентов клеточных оболочек. Действие трех последних из этих антибиотиков будет обсуждаться ниже.

Из культуральной среды, в которой выращивается активный штамм плесени *Penicillium notatum* (гл. 3, разд. 3), можно выделить большое число разновидностей пенициллина. Все они имеют общую структуру (10.7) и различаются только строением боковой цепи. Разновидность пенициллина, известная под названием «бензилпенициллин», вскоре стала типовой. Под общепринятым названием «пенициллин» подразумевается именно он.

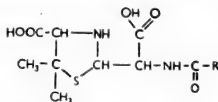


(a) 6-Аминопеницилламовая кислота ( $R = H$ )

(б) Бензилпенициллин ( $R = C_6H_5CH_2CO-$ )

(10.7)

Разнообразные пенициллины под действием щелочей, двухвалентных ионов меди или  $\beta$ -лактамазы (которую обычно называют пенициллиназой) гидролизуются с образованием соответствующих пеницилловых кислот (10.8).

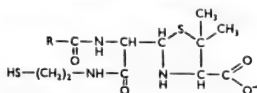


Пеницилловые кислоты

(10.8)

Благодаря наличию в молекуле пенициллина четырехчленного лактамного кольца он представляет собой активное ацилирующее (правда, специфичное) средство. Кольцо это обладает способностью легко размыкаться по связи  $C_{(8)} - N_{(1')}$ .

Было показано, что бензилпенициллин преимущественно ацилирует  $\beta$ -амиомеркаптаны, обладает значительно менее выраженным свойством к другим аминам, а меркаптаны не ацилирует вовсе. Ацилирующей группировкой в молекуле пенициллина служит четырехчленное лактамное кольцо; продукт реакции оказывается ацилированным (например, (10.9)) по соответствующей аминогруппе. Роль сульфгидрильной группы состоит, по-видимому, в том, что она образует водородную связь с атомом кислорода и лактамного кольца, и в результате поляризации  $C=O$ -связи пенициллина увеличивается. Агент, эффективно ацилирующий аминогруппу, должен содержать в молекуле положительно заряженный атом углерода, способный вступать во взаимодействие с атомом азота, несущим отрицательный заряд [1562].



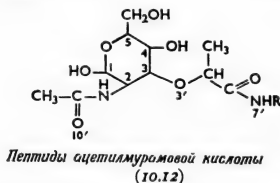
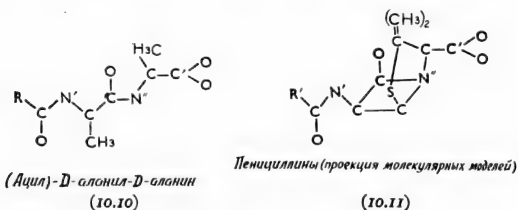
Продукт реакции  $\beta$ -меркаптоэтиламина с пенициллином  
(10.9)

Результаты экспериментов с  $S^{35}$ -пенициллином показали, что устойчивые штаммы стафилококков (даже те, которые не продуцируют пеницилиназу) пенициллин из растворов не поглощают, тогда как чувствительные штаммы стафилококков связывают от 200 до 750 молекул пенициллина на каждую клетку. Это прочная связь: пенициллин не отмывается и не обменивается с нерадиоактивным пенициллином [351, 939, 1241]. Первые молекулы пенициллина связываются инертными веществами до полного насыщения, и только после этого происходит образование ковалентной связи пенициллина с рецептором, играющим ключевую роль в биосинтезе клеточных оболочек. Клетки млекопитающих, а также штаммы *устойчивых* к пенициллину бактерий (в том числе тех, которые не синтезируют пеницилиназу) пенициллин не поглощают, тогда как в бактериальные клетки пенициллин проникает легко и связывается здесь менее чем за 2 мин. Компонент бактериальной клетки, связывающий пенициллин, находится, по-видимому, в плазматической мембране, где происходит синтез клеточной оболочки. Поэтому не удивительно, что этот связывающий пенициллин компонент обнаруживается в той фракции стафилококков, которая содержит фосфолипиды [351].

В последние годы было выдвинуто несколько гипотез, объясняющих механизм первой стадии действия пенициллина определенным структурным сходством между молекулой пенициллина и той или иной частью молекулы соответствующего ацетилмурамового пептида (10.12). В первую очередь следует изложить наиболее вероятные из них; при этом надо иметь в виду, что у различных видов микроорганизмов состав этих пептидов разный, и то или иное толкование может оказаться более или менее справедливым для различных видов.

Простое сравнение молекулярных моделей пенициллина и D-аланил-D-аланина убеждает нас в том, что первый из них может функционировать в качестве антиметаболита последнего. Так, расстояние между  $N'$  и  $N''$  в обеих молекулах [см. проекции молекулярных моделей (10.10) и (10.11)] одинаково (3,3Å). Одинаково у них и расстояние между  $N''$  и  $C'$  (2,5Å). Расстояние от  $N'$  до  $C'$  составляет 5,4 Å для пенициллина и 5,7Å для аланилаланина — значения не тождественные, но достаточно близкие. D-конфигурация пенициллина обеспечивается за счет атома серы, связанного

с атомом углерода, общим для обоих колец в молекуле [1425].

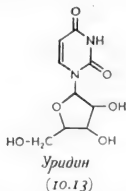


Группой исследователей [764], выяснивших все эти взаимоотношения, было также показано, что пенициллин конкурирует с одним гликопептидом за фермент гликопептидтранспептидазу. Этот фермент был выделен из *E. coli* в неочищенном виде. Гликопептид, о котором идет речь, имеет общую структуру (10.12), но остаток ацетилмуравовой кислоты в этом случае оказывается присоединенным к остатку ацетилглюкозамина. Указанный фермент катализирует реакции образования поперечных связей между пептидными цепями (гл. 1, разд. 3, а). Предполагается, что сначала фермент абсорбирует пенициллин благодаря структурному сходству последнего с нормальным субстратом (10.10), а затем происходит необратимое ацилирование активного центра фермента  $\beta$ -лактамным кольцом антибиотика (см. выше). И, наконец, эти же исследователи [764] обнаружили, что пенициллин блокирует самый последний из 30 ферментов, участвующих в синтезе муреина, входящего в состав клеточной оболочки бактерий.

Парк [1096] предложил другое объяснение активности пенициллина. Он считал, что пенициллин, несомненно, ингибирует ту же транспептидазу, о которой шла речь выше, однако он связывается при этом не аланилаланиновым, а L-аланил-D-глутаминовым участком фермента. Обе гипотезы сходны между собой, ибо предполагают, что пенициллин связывается с активным центром, специфически приспособленным для взаимодействия по меньшей мере с одной из D-аминокислот в дипептиде. Существует еще одна гипотеза, согласно которой пенициллин связывается не с ферментом, а с группировкой, осуществляющей в молекуле муреина поперечную связь (такой группой служит первичная аминогруппа в пентаглицидной части этой молекулы) [1218].

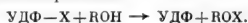
Одна из более ранних гипотез опиралась на данные, полученные при рассмотрении атомных моделей, которые указывали на существование как в молекуле пенициллина, так и в молекуле муравовой кислоты трех группировок, способных образовывать водородные связи. Взаимное расположение этих группировок оказалось примерно одинаковым [341]. Было высказано предположение,<sup>1</sup> что пенициллин используется вместо ацетилмуравовой

кислоты ферментом, ответственным за реакции трансгликозилирования (т. е. полимеризации углеводной части молекулы посредством образования новых гликозидных связей). Было установлено, что ванкомицин подавляет синтез клеточных оболочек именно таким путем, тогда как пенициллин, по-видимому, действует по-иному; описанный механизм действия пенициллина возможен, по-видимому, лишь у отдельных видов или имеет второстепенное значение. Значительно более весомые экспериментальные доказательства свидетельствуют в пользу гипотезы, согласно которой пенициллин реализует свое действие, подавляя активность транспептидазы.



Следует, далее, остановиться на так называемом нуклеотиде Парка, который сыграл в изучении строения клеточных оболочек бактерий историческую роль. Однако надежды связать механизм действия пенициллина с этим нуклеотидом так и не оправдались. Этот нуклеотид синтезируют только некоторые необычные штаммы *Staphylococcus aureus* (особенно штамм Н).

Если на такие штаммы воздействовать сублетальными дозами бензилпенициллина (10.7), то в среде происходит накопление глюконтентапептида [1097], который, как оказалось, представляет собой ацетилмурамовую кислоту, связанную (через  $C_{(1)}$ ) с уридином и с L-аланил-D-глутамил-L-лизил-D-аланил-D-аланином [1094]. Короче говоря, это один из типичных гликопептидов, входящих в состав клеточных оболочек, в котором в предназначенном для ацетилглюкозамина месте присутствует уридин (10.13). Совершенно ясно, что в этом случае пенициллин воспрепятствовал осуществлению обычной реакции трансгликозилирования:



В норме клеточные оболочки не содержат пиримидинов, в частности уридина. Накопление уридинфосфата происходит также при действии aureомицина и кристаллического фиолетового (но не бриллиантового зеленого) [1095]. До сих пор еще не выяснено, имеет ли это обстоятельство значение для антибактериальной активности этих соединений.

Используя неочищенные фракции фермента, извлеченного из *Staphylococcus aureus*, оказалось возможным осуществить «биосинтез» нуклеотида Парка из уридиндифосфат-N-ацетилмурамовой кислоты и соответствующих аминокислот (1.3). Сначала прибавляют L-аланин, затем последовательно остальные аминокислоты и, наконец, D-аланил-D-аланин, который вводится сразу в виде готовой структурной единицы [759]. Аналогичным образом оказалось возможным осуществить взаимодействие ацетилмурамилпентапептида с N-ацетилглюкозамином [309].

Согласно общепринятой в настоящее время гипотезе, нуклеотид Парка синтезируется в плазматической мембране, после чего связывается с липидом и перемещается на наружную поверхность этой мембраны, где взаимодействует с уридинфосфатацетилглюкозамином с образованием дисахаридопептида, в котором ацетилглюкозамин и ацетилмурамовый пептид соединены гликозидной связью (этот дисахарид, так называемый «муропептид», пред-

ставляет собой повторяющуюся структурную единицу, которая полимеризуется, образуя остов клеточной оболочки). Липидные промежуточные продукты могут быть извлечены из бактерий смесью хлороформа с метанолом [69].

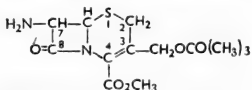
В присутствии пенициллина в клетках *Staphylococcus aureus* накапливается также птитидловое производное рибита, которое служит, по всей видимости, предшественником тейхоевой кислоты [1258].

Бензилпенициллин до настоящего времени является наиболее употребительным в медицинской практике антибиотиком. В течение нескольких последних лет были синтезированы весьма многочисленные аналоги бензилпенициллина действием различных ацилирующих агентов на 6-аминопенициллановую кислоту (10.7), получаемую из культуральной жидкости *Penicillium chrysogenum* [124]. Один из таких продуктов, ампициллин (6- $\alpha$ -амино-фенилацетамидопенициллановая кислота) (пенбрин), активен в отношении многих грамотрицательных микроорганизмов, но легко инактивируется пенициллиназой.

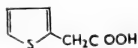
Другие производные бензилпенициллина вполне устойчивы к действию пенициллиназы. Правда, они могут сами индуцировать образование этого фермента, но они же обладают способностью блокировать активный центр пенициллиназы [601]. К числу подобных соединений относится метициллин (селбенин) (6-2', 6'-диметоксibenзамидопенициллановая кислота), уступающий бензилпенициллину в эффективности и обладающий более узким спектром антибактериальной активности; он весьма эффективен при инфекциях, вызванных стафилококками, резистентными к бензилпенициллину. К сожалению, метициллин в кислой среде гидролизует. Совсем недавно вошли в употребление пенициллины, пригодные для перорального применения. К ним относятся, например, фенетициллин ( $\alpha$ -феноксизетилпенициллин) и клоксациллин (3-2'-хлорфенил-5-метилизоксазол-4-илпенициллин). Клоксациллин, оксациллин и нафциллин устойчивы к действию кислот и пенициллиназы.

В гл. 11 (Введение) приводятся сведения о стерических эффектах, способствующих реакции ацилирования пенициллином. А в гл. 6, разд. 6 приведены данные о веществах, не принадлежащих к группе пенициллина, но также, по-видимому, способных функционировать как аналоги метаболитов и образовывать ковалентные связи с соответствующими ферментами.

**Производные цефалоспорины.** Все они получают синтетически из 7-аминоцефалоспоровановой кислоты (10.14), которая представляет собой продукт разложения цефалоспорины C, содержащегося в грибах, который сам по себе недостаточно эффективен в качестве антибактериального агента. В ходе синтеза этих лекарственных веществ аминогруппа, входящая в состав дигидротиазин- $\beta$ -лактамного кольца в (10.14), превращается в амидную группировку посредством взаимодействия с кислотами. В цефалотине роль такой кислоты играет тиазол-2-уксусная кислота (10.15). Цефалотин устойчив в разбавленных кислотах, нечувствителен к пенициллиназе и обладает широким спектром антибактериальной активности.



7-Аминоцефалоспоровановая кислота  
(10.14)



Тиазол-2-уксусная кислота  
(10.15)

Цефалоридин (цепорин) это беталин, который отличается от цефалотина тем, что в его молекуле сложноэфирная группировка в положении 3 замещена

остатком пиридина. Этот препарат сравнительно недавно введен в медицинскую практику. Применяются эти препараты обычно внутримышечно, в больших дозах, при инфекциях дыхательных и мочеполовых путей. Они особенно показаны в случаях аллергии к пенициллинам. Многие бактерии способны синтезировать фермент цефалоспоруазу, гидролизующую  $\beta$ -лактамное кольцо в (10.14).

В основе антибактериального действия всех производных соединения (10.14) лежит нарушение синтеза новых клеточных оболочек, причем их действие направлено на те же активные центры, которые блокируются производными пенициллина [3, 305].

*Ванкомицин, ристоцетин и бацитрацин* напоминают пенициллины своей способностью ингибировать процессы полимеризации, необходимые для создания новых клеточных оболочек у бактерий. В результате цитоплазматические мембраны лопаются и клетки гибнут [69]. Имеются, однако, между этими группами соединений и существенные различия.

Известно, что в молекулах ванкомицина и ристоцетина содержатся остатки аминокислот и углеводов, но полностью структура этих соединений не расшифрована. Оба эти антибиотика, как выяснилось, образуют ковалентную связь с какими-то жизненно важными структурными компонентами бактерий, отличными от тех, которые ацилируются пенициллином, так как было показано, что они не препятствуют адсорбции пенициллина бактериями (точно так же, как пенициллин не мешает действию ванкомицина и ристоцетина). Адсорбции ванкомицина бактериями не происходит, если их предварительно обработать диазометаном. Этот факт, по мнению некоторых исследователей, свидетельствует о том, что важная для синтеза бактериальных клеточных оболочек кислотная группа этерифицируется активированной спиртовой или какой-то другой ей подобной группировкой молекулы ванкомицина [166]. По-видимому, эта кислотная группа принадлежит молекуле полимеразы — фермента, связывающего молекулы дисахаридпентапептида дополнительными гликозидными связями; пенициллин, видимо, образованию этих связей не препятствует, тогда как поперечные связи, чувствительные к пенициллину, не затрагиваются ванкомицином [1096].

Молекула бацитрацина представляет собой декапептид (содержащий четыре остатка D-аминокислот), связанный с тиазолиновым кольцом. Бацитрацин препятствует включению диаминопимелиновой кислоты в состав пентапептидного элементарного звена (гл. 1, разд. 3а). До сих пор, однако, неизвестно, является ли эта реакция основной в механизме действия бацитрацина [645].

В отличие от пенициллина и оксалицина все эти три антибиотика способны постепенно увеличивать проницаемость плазматической мембраны [1189].

По-видимому, то обстоятельство, что бацитрацин нуждается для реализации своей активности в двухвалентном металле, о чем уже упоминалось в гл. 9, разд. 7, непосредственно связано с этим вторичным механизмом действия.

*Новобиоцин*, гликозид 7-оксикумарина, содержащий большое число заместителей в молекуле, заслуживает упоминания в связи с тем, что он способствует накоплению нуклеотида Парка (так же как ванкомицин, ристоцетин и бацитрацин) и препятствует синтезу клеточных оболочек. Однако в основном его действие, во всяком случае в опытах на *E. coli*, состоит в том, что он повреждает плазматическую мембрану, в результате чего важные клеточные метаболиты диффундируют наружу и клетка гибнет [224]. Другие вещества с таким же типом действия описаны в гл. 12, разд. 2. Новобиоцин, кроме того, связывается с некоторыми ферментами, в частности с ДНК-зависимой ДНК-полимеразой, так что действие этого антибиотика отнюдь нельзя расценивать как высокоспецифичное.



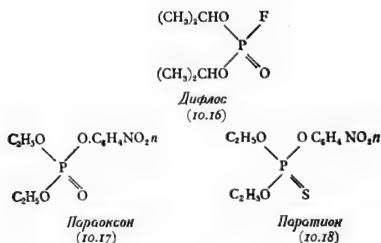
### 3. Органические фосфаты и карбаматы

Соединения, описываемые в этом разделе, приобрели большое значение и представляют интерес как с практической, так и с теоретической точки зрения благодаря своей способности ацилировать эстеразы.

Действуя таким образом, они подавляют активность целого ряда гидролитических ферментов, в том числе ацетилхолинэстеразы, псевдохолинэстеразы, липазы и других эстераз, трипсина и химотрипсина.

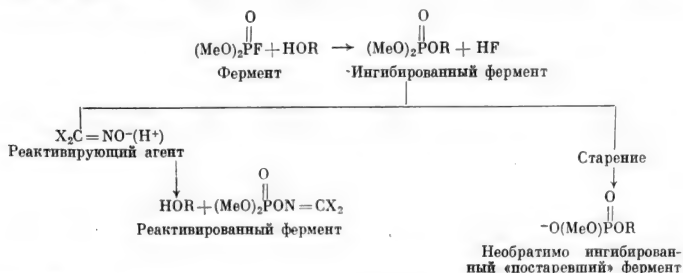
Токсичность органических производных фосфора для млекопитающих находится в прямой зависимости от их способности ингибировать ацетилхолинэстеразу в организме хозяина [56]. Впервые вещества, принадлежащие к этому классу органических соединений, были синтезированы в Германии Шрадером и первоначально предназначались для использования в качестве боевых отравляющих веществ (так называемые «нервные газы») во время второй мировой войны, а затем, в более широких масштабах, в качестве инсектицидов для сельского хозяйства. Избирательность действия первых образцов этих препаратов была недостаточно высокой и их применение в качестве инсектицидов сопровождалось многочисленными случаями отравления птиц и даже людей. Позднее были выпущены другие препараты, обладающие уже значительно большей избирательностью.

Механизм действия фосфорных инсектицидов состоит в ацилировании соответствующего фермента, причем в данном случае происходит не карбонилирование, как это характерно для действия пенициллина и карбаматов, а фосфорилирование. Кинетические исследования, проведенные на химотрипсине (выбор этого фермента связан с его доступностью в чистом виде), показали, что диизопропилфторфосфат (дифлос) (10.16) диизопропилфосфорилирует фермент. При этом происходит отщепление фтористоводородной кислоты. Точно так же параоксон (10.17), который представляет собой активную форму препарата паратиона (10.18) [554], диэтилфосфорилирует оксигруппу фермента. При этом выделяется *n*-нитрофенол [653]. Сходным образом действует и тетраэтилпирофосфат. Присутствие в молекуле препарата электроноакцепторных групп, под влиянием которых прочность связей  $P-O-P$  и  $P-F$  уменьшается, способствует повышению активности этих соединений до определенного максимума, однако дальнейшее уменьшение прочности этих связей сопровождается уже гидролитическим расщеплением препаратов под влиянием воды [56, 57]. Таким образом, ниже этого максимума существует линейная зависимость между логарифмом константы гидролиза и логарифмом константы скорости бимолекулярной реакции взаимодействия органического фосфата с ферментом.



На фиг. 60 изображены основные процессы, сопровождающие фосфорилирование фермента. Если еще не произошло «старение» ингибируемого

фермента, то он может быть реактивирован в результате взаимодействия с анионной группой одного из производных гидроксилamina. Явление старения было открыто Хоббигером [695], который обнаружил, что сложные эфиры вторичных спиртов способствуют «старению» в большей степени, чем соответствующие эфиры первичных спиртов. Правильное представление о старении



Фиг. 60. Инактивация фермента в результате фосфорилирования и его реактивация при условии, что «старение» не произошло.

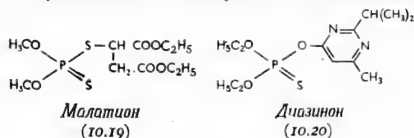
как о процессе, скорость которого пропорциональна скорости гидролиза алкоксигруппы, которая при этом превращается в анион, появилось позднее [155] и в настоящее время является общепринятым. Нечувствительность инактивированного, «постаревшего», фермента к действию антидота обусловлена силами кулоновского отталкивания.

Были проведены эксперименты с радиоактивными фосфорилирующими агентами. Анализ продуктов гидролиза фосфорилированного фермента показал, что фосфорилированию подвергается оксигруппа серина [1263]. Благодаря тому, что этот изотоп испускает интенсивный поток  $\beta$ -частиц и обладает относительно коротким периодом полураспада (всего 14 дней), он оказался весьма удобным орудием исследования судьбы фосфорных инсектицидов в тканях.

Причиной гибели как насекомых, так и млекопитающих при действии на них органических фосфатов является ингибирование ацетилхолинэстеразы, в результате которого в организме происходит накопление ацетилхолина в летальных дозах. Доступ к ацетилхолинэстеразе у насекомых затруднен в большей степени, чем у млекопитающих, так что легко понять, почему все ионизованные аналоги соединения (10.16) и других фосфатов не могут быть использованы в качестве инсектицидов (гл. 2, разд. 2). Примерно к 1950 г. стало ясно, что избирательной активности можно ожидать от веществ, которые претерпевают разные превращения в организме насекомых и позвоночных. Это должны быть либо инертные вещества, активируемые только в организме насекомого, либо активные вещества, дезактивируемые только в организме млекопитающего.

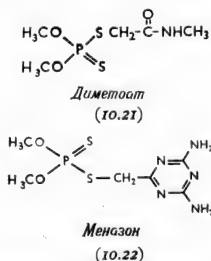
Избирательно действующие вещества действительно были вскоре обнаружены. Одно из таких соединений — малатион (10.19), S-[1,2-ди(карбэтоксид)этил]-O,O-диметилдитиофосфат. Малатион превращается далее в организме насекомых в малаоксон, в котором группировка  $\text{P} = \text{S}$  замещена на  $\text{P} = \text{O}$ ; это и есть истинный токсический агент. В организме млекопитающих малатион быстро гидролизуется карбоксиестеразами, а образующаяся при этом кислота тотчас же элиминируется (в организме насекомых гидролиз карбэтоксильных групп осуществляется лишь в незначительной степени). Таким образом, одно и то же вещество подвергается разным метаболическим превра-

щениям, что и обуславливает их избирательное действие [855].



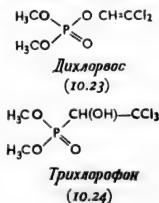
Карбоксиамидазы млекопитающих способны гидролизовать амидные группировки, тогда как насекомые такой способностью не обладают. Примером соединения такого типа может служить диметоат (10.21), о котором речь пойдет ниже.

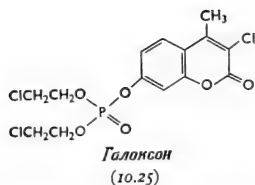
Диазинон (10.20) характеризуется такими же благоприятными структурными особенностями, как малатион: в организме млекопитающих связь



C — O между атомом фосфора и пиримидиновым кольцом быстро гидролизуется, тогда как насекомые неспособны с достаточной скоростью осуществлять эту реакцию; вместо этого в их клетках происходит превращение  $\text{P} = \text{S} \rightarrow \text{P} = \text{O}$ , что приводит к тем же результатам, которые были описаны для малатиона.

Диазинон представляет собой O,O-диэтил-O-(2-изопропил-4-метил-6-пиримидил)-тиофосфат. Он применяется для защиты овец от падальных мух. В известной степени сходный с диазиноном препарат меназон (10.22) является производным триазина; он обладает большей избирательностью действия и уничтожает главным образом сосущих насекомых, например тлей. Он находит широкое применение для покрытия семян хлебных злаков [1308]. Существуют и такие агенты, которые уничтожают всех насекомых без разбора. Они более не применяются, так как препятствуют опылению и приводят к уничтожению полевых птиц, которые погибают от голода.





В настоящее время возможен направленный синтез соединений, содержащих группу  $P = O$ , т. е. заведомо обладающих избирательным действием. Примером может служить дихлорвос (10.23) — летучий органический фосфат, применяемый для уничтожения комнатных мух. По своему химическому строению это диметил-2,2-дихлорвинилфосфат. Попадая в организм млекопитающих через кожу или легкие, он быстро гидролизруется с образованием дихлорвинилфосфата (50% которого в течение 6—12 час выделяется из организма), а небольшая его часть превращается в 2,2-дихлорэтанол — оба эти продукта нетоксичны для человека. В то же время на насекомых дихлорвос оказывает токсическое действие, которое является кумулятивным [702].

Некоторые сравнительные данные о токсичности различных органических фосфатов для млекопитающих и насекомых приведены в табл. 46. Видно, что достигнутое за последние годы снижение токсичности для млекопитающих не сопровождалось снижением токсичности для насекомых. Дополнительные данные по этому вопросу см. в работах [459, 1429].

Таблица 46  
Сравнительная токсичность фосфорорганических инсектицидов [459]

Вещество	LD <sub>50</sub> для крыс (мг/кг)		LD <sub>50</sub> для насекомых				
	при пероральном введении (острая токсичность)	при нанесении на кожу	<i>Megoura viciae</i> (гли виковой) 0/00	<i>Tetranychus telarius</i> (клещ) 0/00		<i>Pieris brassicae</i> (белянка-репница, личинки), кг/га	<i>Musca domestica</i> (попелуха), комнатная муха, самцы, мг/м <sup>2</sup>
				половозрелые особи	яйца		
Тетразтилпрофосфат	0,5	20	2	75	—	—	—
Паратион	3	50	2	65	—	—	—
Шрадан	5	50	—	—	—	—	—
Дихлорвос	25	75	30	35	550	< 0,018	< 1,1
Диметоат	200	750	3	2	60	0,77	19,8
Диазинон	300	> 1 200	12	14	175	0,044	374
Трихлорофон	650	> 2 800	—	—	—	—	—
Мевазон	1 200	> 500	4	90	50	> 11	—
Малатион	1 400	> 4 000	18	125	175	0,484	97,9
Галоксон	(900—2 000)	?	—	—	—	—	—

Что касается более новых препаратов из группы органических фосфатов, то некоторые из них обладают столь высокой избирательностью действия, что их можно вводить перорально. Так, для защиты домашнего скота от жалящего овода достаточно однократного введения трихлорофона рег ос. Это вещество, известное также под названием метрифонат и дивон, представляет собой диметил-2,2,2-трихлор-1-оксиэтилфосфонат (10.24).

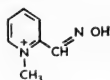
Препарат галоксон также вводится внутрь. Он получил широкое распространение в качестве антигельминтного средства, эффективного, в частности, против нематод у коров и овец, остриц и аскарид у лошадей и при

некоторых глистных инвазиях у свиней и домашней птицы. По своей химической структуре галоксон представляет собой ди-(2-хлорэтил)-3-хлор-4-метил-7-кумаринилфосфат (10.25) [372]. Было обнаружено, что галоксон необратимо ингибирует холинэстеразу *Haemonchus contortus*, тогда как соответствующий фермент, содержащийся в эритроцитах овцы, блокируется лишь временно и его активность быстро восстанавливается (см. также гл. 4, разд. 4, г) [892]. Если в молекуле галоксона хлорэтильные группировки заменить на этильные, то получившееся в результате соединения оказывает уже токсическое действие на холинэстеразу хозяина [241].

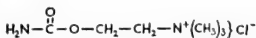
В садоводстве особый интерес представляют инсектициды *общего* действия, поскольку уничтожению подвергаются только те насекомые, которые питаются растением. Обычно в качестве таких инсектицидов используют вещества, которые превращаются в истинные токсические соединения только в организме насекомого в результате превращения группировки  $P = S$  в  $P = O$ . Примером может служить диметоат (10.21).

Для спасения людей, пострадавших от токсического действия органических фосфатов, применяют средства, обеспечивающие реактивацию фосфорилированной ацетилхолинэстеразы. Для этой цели пригодны производные гидроксилamina; они вызывают реактивацию ацетилхолинэстеразы как *in vitro* [312, 1555], так и в организме человека [719].

В основе механизма действия гидроксиламинов лежит конкуренция между гидроксильными группами серина и гидроксилamina за взаимодействие с фосфорильной группой. При этом происходит разрыв ковалентной связи с остатком серина и образование новой ковалентной связи с остатком гидроксилamina. Одним из самых лучших реактиваторов в опытах *in vitro* оказался «2-ПАМ», *анти*-изомер иодметилата пиридин-2-альдоксима (10.26). Сходное с ним соединение, *бис*(4-альдоксимопиридиний)-1,3-пропан, обладает преимуществом, связанным с возможностью двухточечного контакта (см. гл. 11, разд. 4, в), и является, по-видимому, веществом еще более активным *in vivo* [696]. Так как прочность связи фосфат — фермент различна в зависимости от природы инсектицида, то и дозы антидота должны соответственно варьировать. Уилсон [1550], создавая препарат (10.26), ввел в его молекулу четвертичную аммониевую группу, с тем чтобы обеспечить взаимодействие с анионным центром ацетилхолинэстеразы (фиг. 63) и облегчить проникновение окисленного кислорода в анион антидота к фосфорилированному остатку серина.



2-ПАМ  
(10.26)



Карбахол  
(10.27)

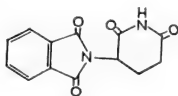
Дифлос (10.16) применяют в медицинской практике для снижения внутриглазного давления при глаукоме.

Дополнительные сведения об органических фосфатах см. в работах [664, 1067]<sup>1</sup>.

**Карбаматы.** Ацетилхолинэстеразу могут также ингибировать карбаматы (уретаны), например физостигмин (4.25) и неостигмин (4.26). Длительность действия этих ингибиторов исчисляется всего несколькими часами, и они легко вымываются из изолированных органов. В связи с этим карбаматы находят широкое применение в фармакологии и медицине. Карбахол

<sup>1</sup> Имеется русский перевод: О'Брайя Р., «Токсические эфиры кислот фосфора», изд-во «Мир», М., — *Прим. ред.*

(карбамилхолинхлорид) (10.27), который является изостером ацетилхолина (4.1), блокирует ацетилхолинэстеразу и гидролизуетсся ею весьма медленно. Он обнаруживает и мускариновую, и никотиновую активность, свойственные ацетилхолину, но действие его более интенсивно и более длительно (гл. 4, разд. 6, в).



Талидомид  
(10.28)

Все эти соединения способны осуществлять перенос  $R_2NCO$ -группы к остатку серина, так что образуются карбамойльные производные фермента [694, 1554]. Они, по-видимому, действуют и непосредственно на постсинаптические ацетилхолинорецепторы.

Некоторые карбаматы, например карбарил (1-нафтил-N-метилкарбамат), широко используются в качестве инсектицидов и по механизму действия очень напоминают органические фосфаты. Более подробно о применении карбаматов см. в работах [292, 990].

*Талидомид* (10.28). Талидомид ( $\alpha$ -фталимидоглутаримид) обладает способностью ацилировать при температуре тела природные диамины, например, спермидин и путресцин. В результате образуются глутаримидо- $\alpha$ -карбоксибензоилпроизводные этих оснований. Существует предположение, что биологическое действие талидомида (способность подавлять иммунные реакции и оказывать повреждающее действие на плод) определяется именно этими реакциями ацилирования [493].

#### 4. Алкилирующие агенты

Все алкилирующие средства, в том числе диметилсульфат и диазометан, токсичны для млекопитающих. Алкилирующие агенты обладают и способностью этерифицировать анионы фосфорных и карбоновых кислот, а также анионы фенолов. Наиболее активные из них алкилируют и нейтральные аминогруппы (первичные, вторичные и третичные). Некоторые из наиболее активных биологических агентов представляют собой  $\beta$ -галоидопроизводные диэтилсульфидов (сернистые иприты) и диэтиламинов (азотистые иприты).

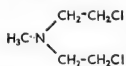
Сернистые иприты обнаруживают слишком низкую избирательность действия, поэтому в медицине они не применяются, но азотистые иприты, например (10.29), используются в терапии рака. При лимфогрануломатозе (болезнь Ходжкина) применяют мустин (10.29)<sup>1</sup>.

*Роль алкилирующих агентов в терапии рака.* В настоящее время установлено, что термин «рак» является понятием собирательным и относится к двадцати или еще большему числу различных заболеваний, обладающих одной общей характерной особенностью — нерегулируемым размножением клеток. Реакция на терапевтическое воздействие при всех этих заболеваниях получается различной. В большинстве случаев действие препаратов, применяемых в терапии рака, направлено на все быстрорастущие клетки, в том числе на нормальные клетки костного мозга, слизистой языка и кишечника.

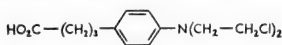
<sup>1</sup> Мустин (эмбихин) в настоящее время для этой цели не применяют, ввиду того что созданы более эффективные и менее токсичные препараты. В какой-то степени это относится и к некоторым противоопухолевым препаратам, упоминаемым далее в этом разделе. — *Прим. ред.*

К счастью, токсическое действие некоторых препаратов (например, азот-содержащих алкилирующих агентов) характеризуется пусть небольшой, но отчетливо благоприятной избирательностью действия [1299]<sup>1</sup>.

Высокоспецифичные методы химиотерапии рака смогут появиться только после того, как будут обнаружены более существенные биохимические различия между нормальными клетками и клетками злокачественной опухоли. В настоящее время принято считать, что злокачественный рост является следствием случайной делеции (выпадения) одного или нескольких генов, в результате чего утрачивается способность синтезировать ферменты, обеспечивающие регуляцию клеточного роста [624]<sup>2</sup>.



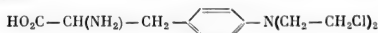
*Мустин*  
(10.29)



*Хлорамбуцил*  
(10.30)

В настоящее время наиболее рациональным применением лекарственных препаратов, действующих антагонистически на плотные опухоли, считается назначение их после осторожного иссечения первичной опухоли. В этих случаях препарат воздействует на ткань опухоли, которая оказалась недоступной для хирурга, а также предотвращает возникновение метастазов [157]. При такой комбинированной терапии операция оказывается менее калечащей. К тому же и прогнозы оказываются значительно более благоприятными. В течение последних пяти лет благодаря применению комбинированной терапии удалось сохранить жизнь многим больным с семиномой, тогда как после одного только хирургического вмешательства почти все такие больные умирали вскоре после операции. Таким образом, можно считать, что известный прогресс в этой области есть, хотя приведенный пример, безусловно, относится к числу исключительно благоприятных.

Азотистые иприты в качестве противоопухолевых средств были предложены Хэддоу. Из ароматических производных наиболее широкое применение получили хлорамбуцил (10.30) [*n*-*bis*-2-хлорэтил]аминофенилмасляная кислота], синтезированный Тиммисом, и мелфелан (10.31) [*L-n-bis*-(2-хлорэтил)аминофенилаланин], полученный Бергелом [156]. Первый из этих препаратов применяется при хроническом лимфоидном лейкозе, второй оказался эффективным при миеломах. Применение в клинике нашел также бусульфан (10.32) [1,4-ди(метансульфонилокси)бутан] (мильеран), который используется при хроническом миелоидном лейкозе [627]. Внедрение в медицинскую практику этих трех алкилирующих препаратов связано также с именами Элсона, Голтона и Росса.



*Мельфелан*  
(10.31)



*Бусульфан*  
(10.32)

<sup>1</sup> Весьма полезная монография [624] имеется в русском переводе: У. Р о с с, «Биологические алкилирующие вещества», изд-во «Медицина», М., 1964. Рекомендуем также книги Ч е р н о в а В. А. «Цитостатические вещества в химиотерапии злокачественных новообразований», изд-во «Медицина», М., 1964 и Б е л о у с о в о й А. К. «Биохимические подходы к химиотерапии опухолей», изд-во «Медицина», Л., 1965.— *Прим. ред.*

<sup>2</sup> Это только одна из существующих гипотез.— *Прим. ред.*





Считается, что действие «ипритов» и некоторых других бифункциональных алкилирующих агентов на молекулярном уровне состоит в образовании поперечных связей между цепями молекулы ДНК, что препятствует репликации ДНК. По-видимому, этими поперечными связями соединяются два остатка гуанина по атомам в положении 7, хотя возможны, разумеется, и другие побочные реакции [885]. Некоторые антибиотики, в частности порфирамины и митомицин С, в организме млекопитающих превращаются в бифункциональные алкилирующие соединения, которые затем необратимо связывают между собой обе комплементарные цепи ДНК, и клетки гибнут. По-видимому, связь при этом осуществляется за счет аминогруппы аденина или цитозина и оксогруппы в положении 6 гуанина [763]. Эти антибиотики находят применение в экспериментальной онкологии. Химическая структура и превращения митомицина рассмотрены в гл. 1, разд. 4, а.

Большинство этих алкилирующих агентов имитирует действие ионизирующего излучения, но между ними существуют и известные различия.

Введение остатков аминокислот и углеводов в молекулы азотистых ипритов позволило несколько повысить их способность избирательно накапливаться в опухоли. Однако в настоящее время своей основной задачей исследователи считают создание таких новых канцеролитических агентов, которые обладали бы латентным действием [1229].

Используя данные о скоростях соответствующих реакций, можно [1227] вводить в молекулу заместители, которые способны на расстоянии изменить плотность электронного облака атомов хлора и таким образом снизить их реакционную способность. Предполагается, что подобные дезактивирующие группировки будут в свою очередь со временем дезактивированы соответствующим ферментом, содержащимся в опухолевой ткани.

Нитромин (10.33) может служить еще одним примером азотистого иприта с латентным действием: он активируется в организме в результате восстановления (см. выше). Создано много соединений, которые активируются в результате гидролиза. Так, циклофосфамид (10.37) (эндоксан, цитоксан), лактон N,N-бис-2-хлорэтил-N'-3-оксипропилдиамида фосфорной кислоты, служит в организме источником бис-2-хлорэтиламина, низшего гомолога соединения (10.29) [80]. С помощью циклофосфамида удалось получить весьма хороший результат при некоторых немногочисленных злокачественных заболеваниях [567]. В частности, подобно метотрексату он оказался эффективным при опухоли Беркита у детей [261].

Более подробную информацию о биологически активных алкилирующих агентах можно найти в книге Росса [1229]<sup>1</sup>.

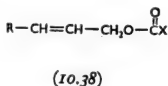
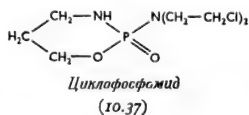
Помимо соединений, обладающих латентной токсичностью, в настоящее время ведутся поиски агентов, которые можно было бы охарактеризовать как «латентно безвредные».

В молекулах этих веществ, которые вводятся непосредственно в опухоль, должны содержаться такие заместители, которые обеспечивали бы возможность детоксикации препарата здоровыми клетками [1229].

*Алкилирующие агенты и канцерогенез.* В то время как канцеролитические алкилирующие агенты, о которых шла речь выше, по-видимому, настолько сильно изменяют структуру нуклеиновых кислот, что они утрачивают всякую биологическую активность, можно себе представить, что более «деликатные» изменения, вызванные простым алкилированием, повлекут за собой те самые небольшие делеции в наследственном материале, которые, согласно современным представлениям, могут служить причиной возникновения рака (см. выше). Известно, в частности, что многие метилирующие агенты обладают канцерогенными свойствами. Например, такой диалкилнитрозамин, как

<sup>1</sup> См. сноску на стр. 321.— *Прим. ред.*

$(\text{H}_3\text{C})_2\text{N}-\text{NO}$ , разлагается с образованием диазометана, который метилирует гуанин.



Действительно, при экспериментальном раке печени, вызванном этим нитрозамином, был обнаружен 7-метилгуанин [731, 953].

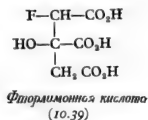
Далее, краситель масляный желтый и сходные с ним соединения, которые вызывают рак печени, являются производными N-метиламиноазобензола. N-метильная группа в процессе метаболизма превращается в активную алкилирующую N-метилольную группировку  $(\text{ONCH}_2\text{N}-)$ , способную прочно связываться с дезоксирибонуклеиновой кислотой [1204]. 4-диметиламинстильбен, обладающий и канцерогенными, и канцеролитическими свойствами, действует, по-видимому, аналогичным образом [625]<sup>1</sup>.

Сложные эфиры аллиловых спиртов, например (10.38), относятся к необычному типу алкилирующих соединений, способных осуществлять перенос аллильной группы к аниону, обладающему выраженными нуклеофильными свойствами (например, тиолат-иону). При этом вытесняется анион  $\text{XSO}_2^-$ . Такое расщепление по связи «алкил — кислород» не свойственно насыщенным эфирам. Было выяснено, что такая реакция происходит при действии пирролизидиновых алкалоидов, вызывающих рак печени [375].

Для более подробного ознакомления с вопросами химического канцерогенеза см. гл. 7, разд. 2, б, а также работы [92, 325]<sup>2</sup>.

## 5. Летальный синтез и летальное включение

Термин «летальный синтез» был введен Питерсом, который использовал его для характеристики токсического действия фторуксусной кислоты, которая сама по себе нетоксична, но в организме млекопитающих подвергается метаболическому превращению в токсический агент — фторлимонную кислоту. Это превращение, осуществляемое в цикле трикарбоновых кислот, оказывается возможным вследствие того, что фторуксусная кислота до такой степени стерически похожа на уксусную, что целый ряд ферментов использует ее вместо уксусной. В результате фторуксусная кислота претерпевает те же самые превращения [909, 975, 1136]. Токсический эффект обусловлен тем, что фторлимонная кислота (10.39) блокирует фермент, катализирующий дегидратирование лимонной кислоты с образованием *цис*-аконитовой. Таким образом, фторлимонная кислота играет роль антиметаболита лимонной кислоты (см. гл. 6, разделы, посвященные аналогам метаболитов).



<sup>1</sup> Гипотезу о канцеролитическом и канцерогенном действии, опосредованном через лизосомы, см. в статье Филова В. А. Вопросы онкологии, 1970, № 7, 93—100.— *Прим. ред.*

<sup>2</sup> См. сноску на стр. 212 (гл. 7, разд. 2, б).— *Прим. ред.*

От тех случаев, когда биологически активное вещество образуется в результате разложения (гл. 2, разд. 4), летальный синтез отличается только тем, что вместо разложения происходит синтез. В данном случае из вещества, содержащего всего два атома углерода, образуется вещество, содержащее шесть атомов углерода. Кроме того, в процессе этого синтеза исходное вещество, прежде чем превратиться в токсическое соединение, проходит по меньшей мере через три ферментные системы и каждая из них осуществляет какое-то небольшое изменение соответствующего промежуточного вещества.

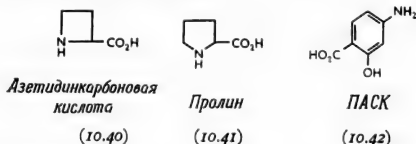
Фторуксусная кислота, содержащаяся в южноафриканских растениях, относящихся к роду *Dichapetalum*, послужила причиной гибели большого количества скота в Южной Африке. Токсическое действие фторуксусной кислоты не связано с химическим действием атома фтора, так как алифатическая связь  $C - F$  представляет собой самую прочную из всех связей углерод — галоген. Дело в том, что из-за очень малых размеров атома фтора фторуксусная кислота может имитировать уксусную [120].

Многие ароматические амины в организме млекопитающих превращаются в канцерогенные ароматические гидроксилламин [1002]; в качестве примера назовем 4-ацетаминодифенил, 2-ацетаминифенол и, возможно, 2-аминонафталин. В организме насекомых в отличие от млекопитающих хлорированные циклодиеновые инсектициды — гептахлор, алдрин и изодрин — превращаются в эпоксиды, причем некоторые из этих эпоксидов гораздо токсичнее исходных соединений [234].

Под летальным включением подразумевают, что аналог метаболита включается в состав какого-либо из макромолекулярных соединений клетки. Так, например, *n*-фторфенилаланин и этионин включаются в белок вируса полиомиелита вместо фенилаланина и метионина, соответственно [1504]. При этом включение этионина не дает токсического эффекта, тогда как включение фторфенилаланина приводит к ингибированию синтеза белка, вирусных антигенов и инфекционной РНК вируса. Далее, азетидин-2-карбоновая кислота (10.40) и 3,4-дегидро-DL-пролин ингибируют рост бактерий (а также проростков высших растений), включаясь в белок вместо пролина [531].

*l*-Аминосалициловая кислота (ПАСК) (10.42), которая широко применяется при туберкулезе у людей, включается (во всяком случае у некоторых бактерий) в молекулу птероилглутаминовой кислоты (6.17) вместо *l*-аминобензойной кислоты [1471]. В результате измененный птеридин уже не может выполнять свои нормальные функции в клетке.

Способностью к летальному включению в нуклеиновые кислоты обладают многие аналоги пириимидиновых и пуриновых оснований. Так, например 5-бромурацил (10.43) быстро включается в ДНК *E. coli*, так что содержание его может достигать 0,6% веса ДНК.



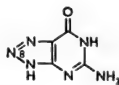
Включение 5-фторурацила в состав РНК *E. coli* происходит до тех пор, пока почти половина всего урацила не заменится этим аналогом [723]. При этом задерживается синтез некоторых белков, но полное ингибирование синтеза ДНК происходит по другой причине (см. ниже). Помимо 5-бромурацила, в молекулы ДНК (но не РНК) включаются также 5-хлор- и 5-гидроурацил [1472]. У вируса табачной мозаики 8-азагуанин (10.44) включается

в РНК вместо гуанина. В результате прекращается размножение вируса в растительной клетке [979]. 8-Азагуанин включается также в тРНК *B. cereus*; полное подавление синтеза белка происходит в течение 10 мин в присутствии в среде всего 36 мкг азагуанина на 1 мл; действие азагуанина снимается гуанином, если его добавить не позднее чем через 30 мин [306]. Азагуанин включается также в иРНК *B. cereus* и в клетки HeLa. При этом подавляется синтез белка, тогда как синтез РНК и ДНК почти не нарушается [1607]. Туберцидин (7-дезаазадеозин) — антибиотик, выделенный из *Streptomyces tubercidicus*, включается в молекулы РНК и ДНК фибробластов млекопитающих (мышь), что приводит к гибели клеток. Погибают при этом и вирусы, инфицирующие эти клетки. Как полагают, причина этого состоит в том, что в туберцидине отсутствует атом азота в положении 7, который имеется в молекуле аденина и играет важную роль в процессе образования водородных связей между комплементарными спиралями в молекуле ДНК [6].

В некоторых случаях включение аналогов пуриновых и пиримидиновых оснований не сопровождается нарушениями метаболизма. Так, например, клетки человека, в которых 60% тимидина в РНК замещено на 5-бром-(или 5-хлор)-дезоксисуридин, остаются вполне жизнеспособными и могут культивироваться сколь угодно долго [432]. Аналогичным образом и бактерии, например *E. coli* и *B. subtilis*, в клетках которых 70% тимидина замещены бромдезоксисуридином, по-видимому, полностью сохраняют свои функции, в том числе трансформирующую способность по крайней мере для трех ауко-трофных маркеров.



5-Бромурацил  
(10.43)



8-Азагуанин  
(10.44)



6-Азаурацил  
(10.45)



6-Меркаптопурин  
(10.46)

В некоторых клетках аналоги пуринов и пиримидинов практически не включаются в нуклеиновые кислоты, но оказываются вовлеченными в летальный синтез. Это происходит в тех случаях, когда они превращаются в клетке в риботиды и дезоксириботиды, которые во многих случаях повреждают клетку, так как оказываются способными конкурировать с нормальными нуклеотидами.

Так, например, 5-фторурацил, который дает некоторый положительный эффект при лечении лейкозов<sup>1</sup>, превращается в организме в 5-фторурацил-дезоксириботид, который препятствует синтезу тимидиловой кислоты [310]. В клетках *E. coli* 5-фторурацил также превращается в 5-фторурацилдезоксириботид. Бактерии при этом быстро погибают, так как прекращается включение тимина в ДНК [330]. Аналогичным образом при действии 6-азаурацила

<sup>1</sup> 5-Фторурацил не нашел применения в клинике для лечения лейкозов; этот препарат используется преимущественно при злокачественных опухолях желудочно-кишечного тракта. — Прим. ред.

(10.45) задерживается рост злокачественных опухолей у мышей; 6-азаурацил в клетке превращается в соответствующий риботид-аналог оротидиловой кислоты, блокирующий активность фермента оротидилдекарбоксилазы [1099].

5-Иоддезоксигуанидин, известный под сокращенным названием ИДУР, включается в ДНК клеток млекопитающих, растений, бактерий, а также в ДНК вирусов, например вируса осповакцины и вируса герпеса [1163, 1513]. Он также нарушает утилизацию тимидина, превращаясь в клетках в соответствующий 5'-монофосфат.

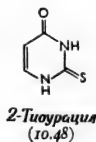
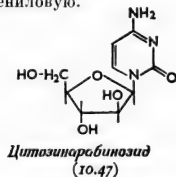
5-Иоддезоксигуанидин представляет особый интерес в связи с тем, что он оказался одним из самых эффективных противовирусных лекарственных средств. Его применяют местно для лечения герпетического кератита — инфекционного заболевания глаз, вызванного вирусом герпеса [806, 1411]. Иоддезоксигуанидин быстро излечивает это тяжелое заболевание, считавшееся ранее хроническим.

Некоторую ясность в вопрос о механизме действия этого вещества внесли следующие опыты: при воздействии иоддезоксигуанидина на вирус псевдобешенства почти весь тимин в вирусной ДНК замещается на 5-иодурацил. Если далее таким измененным вирусом инфицировать клетки почки млекопитающих (в культуре), то вирусная ДНК воспроизводится, но белковая оболочка отсутствует, и, следовательно, новые вирусные частицы не образуются. Было показано, что новая ДНК обладает потенциальной инфицирующей способностью: после обработки тимидином, когда большая часть иодурацила вновь замещается тимидином, инфекционность ДНК восстанавливается [799].

Внутривенное введение больным ИДУР оказывает благоприятное влияние на течение внутрикожной инфекции, вызванной вирусом осповакцины [280]. У хомяков подкожными инъекциями 5-иоддезоксигуанидина удается подавить образование опухолей, вызываемых аденовирусом типа 12 [729]. Препарат вызывает (у людей) стоматит и подавляет гемопоэз. Этот эффект ослабляется, если одновременно вводить тимидин [967].

При герпетическом кератите, во всяком случае у кроликов [1446], эффективным оказался также цитозинарабинозид (10.47), который способен блокировать синтез дезоксицитидина в инфицированных клетках [1187].

6-Меркаптопурин (10.46) считается эффективным препаратом, позволяющим продлить жизнь больных с острым лейкозом. Его канцеростатическая активность изучалась на клетках асцитной опухоли Эрлиха. По-видимому, в основе механизма действия 6-меркаптопурина лежит его способность ингибировать многочисленные реакции взаимодействия пуринов между собой. Возможно, терапевтическая активность 6-меркаптопурина обусловлена синергическим эффектом [691]. Известно, далее, что 6-меркаптопурин в клетках асцитной опухоли Эрлиха превращается в монофосфат (6-тиоинозин-5-фосфат), который конкурентно ингибирует инозин-5'-фосфатдегидрогеназу [84]. Аденилсукцинатсинтаза также очень сильно ингибируется 6-меркаптопурином, который, таким образом, препятствует превращению инозиновой кислоты в адениловую.



Более подробно о метаболических процессах при летальном синтезе с участием пуринов и пиримидинов см. в работе [474].

## 6. Разные примеры

Хлор как элемент существует в водном растворе только при pH ниже 2. В менее кислых растворах он превращается в хлорноватистую кислоту. Для хлорноватистой кислоты  $pK = 7.2$ , причем дезинфицирующая активность пропорциональна концентрации нейтральных молекул. Высокая активность хлора, который действует даже при разбавлении 0,2 ч. на млн. частей воды, свидетельствует о том, что действие его является в достаточной степени специфическим. Было высказано предположение, что нейтральные молекулы хлорноватистой кислоты проникают в клетку и атакуют сульфгидрильные группы важных ферментов. В частности, альдолаза *E. coli*, представляющая собой один из важнейших ферментов гликолиза, весьма чувствительна к действию хлорноватистой кислоты, чем, надо полагать, и объясняется бактерицидная активность последней [836]. Однако действие хлорноватистой кислоты на некоторые микроорганизмы снимается тиосульфатом натрия [4026].

При взаимодействии хлорноватистой кислоты с аммиаком образуется менее активное вещество, хлорамин ( $NH_2Cl$ ); его часто применяют в тех случаях, когда нужно создать депо дезинфицирующего агента, например в плавательных бассейнах. Несомненно, хлорноватистая кислота образует также и в клетке (и вне ее), в результате взаимодействия с аминокислотами и белками, замещенные хлорамины, которые могут играть здесь роль депо, так как находятся в состоянии равновесия с хлорноватистой кислотой. Для дезинфекции ран используют некоторые синтетические хлорамины, например N-хлор-*N*-толуолсульфамид (хлорамин-Т), который медленно выделяет хлорноватистую кислоту [969].

Бактерицидная активность брома при pH выше 6 обусловлена главным образом неионизированными молекулами бромноватистой кислоты ( $pK$  9); при pH ниже 3 равновесие сдвигается в сторону образования свободного брома. Бромамин настолько нестабилен, что при добавлении аммиака бактерицидная активность брома несколько не снижается [1588].

Иод в нейтральных водных растворах существует главным образом в виде элементарного иода, который обладает спороцидным действием. При pH 8,5 отношение иодноватистая кислота: иод становится равным 1 : 1. При этом соответственно падает и спороцидная активность иода. Иодноватистая кислота очень слабая кислота, так что ее анионы никакой роли не играют. Иод с аммиаком не образует соединений типа хлораминов, но комплекс его с иодистым калием ( $KI_3$ ) может играть роль депо. Для того чтобы обеспечить возможность существования этого комплекса в водном растворе, требуется очень большой избыток иодистого калия [1589].

Далее следует остановиться на некоторых дезинфицирующих веществах, не обладающих способностью действовать избирательно. Считается, что повреждающее действие формальдегида на бактерии обусловлено его взаимодействием с аминоклупами белка, функции и свойства которого в результате изменяются. Такие агрессивные окислители, как перманганат калия и перекись водорода, разрушают все органические вещества. Перекись водорода в присутствии окисляемого субстрата (например, тиолового соединения или аскорбиновой кислоты) и следов тяжелого металла (например, железа) может инициировать самораспространяющуюся цепную реакцию.

Имеются данные, свидетельствующие о том, что лечебное действие тиомочевины и тиоурацила (40.48) при тиреотоксикозе объясняется способностью этих соединений восстанавливать свободный иод в крови больных [4006]. В пробирке эта реакция восстановления иода в иодид-анион и окисления тиоурацила в дисульфид проходит быстро и с количественным выходом. В отсутствие свободного иода становится невозможным дальнейшее образование тиреоидного гормона [284]. При тиреотоксикозах успешно применяются также многие другие гетероциклические меркаптопроизводные.

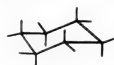
# Стерические факторы

## Введение

Биологическое действие молекул в значительной степени определяется их размером и формой. Некоторые типы биологического действия реализуются плоскими молекулами, тогда как другие, напротив, трехмерными молекулами. Бензольное кольцо (11.1), например, плоское, и, кроме того, все валентности шести его углеродных атомов расположены в плоскости кольца. Плоское строение имеют и другие сопряженные системы (т. е. такие системы, у которых каждая вторая связь двойная).



Бензол  
(11.1)



Циклогексан  
(11.2)

В отличие от них молекулы алициклических и алифатических соединений непланарны. Например, молекула циклогексана (11.2), содержащего на шесть атомов водорода больше, чем бензол (11.1), не плоская; только четыре из шести атомов углерода находятся в одной плоскости, и все связи расположены под разными углами к плоскости кольца. В качестве примера лекарственного вещества с непланарным кольцом можно привести атропин (4.14). Алифатические и алициклические соединения могут проявлять оптическую активность, если они содержат хотя бы один асимметрический атом углерода (см. ниже, разд. 1).

В ряду производных акридина впервые было обнаружено, что молекулы веществ, активных в качестве химиотерапевтических средств, должны удовлетворять определенному требованию: некоторая определенная часть их поверхности должна быть плоской [47]. В гл. 8, разд. 3.б, подчеркивалось, что высокая бактериостатическая активность 9-аминоакридина (8.16), имеющего совершенно плоскую молекулу, полностью исчезает при удалении одного из боковых колец или замене его гидрированным (и, следовательно, неплоским) кольцом. Эти, а также другие подобные эксперименты показали, что антибактериальной активностью обладают только те амины гетероциклического ряда, у которых плоская поверхность молекул составляет не менее  $38 \text{ \AA}^2$ .

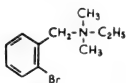
Энергия вандерваальсова взаимодействия каждого бензольного или пиридинового кольца с плоским участком рецептора составляет  $2-3 \text{ ккал/моль}$  (гл. 5, разд. 1). При замене таких колец в молекуле лекарственного вещества на более гидрированные нужно принимать во внимание следующее обстоятельство. Циклопентановое кольцо вследствие тесного расположения заместителей (даже в тех случаях, когда этими заместителями являются атомы водорода) имеет почти плоскую структуру; то же самое можно сказать о пятичленном кольце рибозы. Циклопентановое кольцо также имеет плоскую структуру, тогда как циклогексеновое и циклобутановое кольца деформированы. Сильно деформировано циклогексановое кольцо (11.2). Если бы даже

циклобутановое кольцо имело плоскую структуру, его вандерваальсова энергия составляла бы всего 2/3 по сравнению с энергией бензольного кольца. Кроме того, атом каждого заместителя, непосредственно связанный с небензольным кольцом, выведен из плоскости кольца, и это в свою очередь может служить дополнительной причиной уменьшения вандерваальсовой энергии.

В тех случаях, когда требуется выяснить, насколько необходима для биологической активности данного соединения плоская структура, иногда пользуются таким приемом: заменяют в молекуле фенильные группы на какие-либо иные. Так, у амфетамина и близких к нему по структуре лекарственных веществ (производных фенилэтиламина и фенилэтаноламина) замещение бензольного кольца на циклобутановое, циклопентановое, циклогексеновое и циклогексановое кольца всегда приводит к снижению фармакодинамической активности [259, 260].

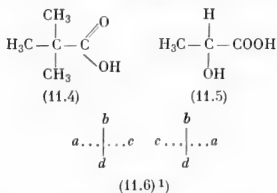
В препаративной химии хорошо известны случаи, когда из-за стерических препятствий трудно осуществить самые простые химические реакции. Так, например, триметилуксусную кислоту (11.4) этерифицировать значительно труднее, чем уксусную. Стерические препятствия, возникающие при гидрировании двойной связи, обсуждались в гл. 7, разд. 1, 6. Существует, однако, еще один вид стерических затруднений, а именно нарушение резонансного взаимодействия, приводящее к существенному изменению реакционной способности замещенной группы, примером чему может служить пенициллин (10.7). Амиды обычно стабилизированы большой энергией резонанса, они имеют плоские молекулы и неакционноспособны. Если же путем введения в амидную группу соответствующего заместителя вывести некоторые из составляющих ее атомов из плоскости, то резонанс оказывается невозможным и вещество становится высокоактивным. Так, четырехчленные  $\beta$ -лактамы в тысячу раз легче гидролизуются, чем линейные неразветвленные амиды, например ацетамид. У пенициллина, в молекуле которого  $\beta$ -лактамное кольцо сконденсировано с пятичленным тиазолидиновым, один из атомов углерода, связанный с амидной группой, в еще большей степени выступает из плоскости амидной группы. В результате пенициллин примерно в миллион раз активнее (в реакциях гидролиза и ацилирования), чем обычный амид линейной структуры [715, 1577].

В некоторых случаях стерические затруднения оказываются необходимыми для проявления фармакологического эффекта. Так, например, если в молекуле бретилия (11.3), который первоначально использовался как препарат, понижающий артериальное давление, заменить атом брома на хлор, иод, метильную или нитрогруппу, то биологическая активность при этом сохраняется. Однако замена брома на водород приводит к полной утрате этой активности. В связи с этим возникло предположение, что для выведения группировки, обладающей основным характером, из плоскости бензольного кольца [205] необходим *орто*-заместитель. Возможно, что стерические препятствия обуславливают также биологическую активность стильбэстрола (11.7). Имеются косвенные данные, свидетельствующие о том, что высокая эстрогенная активность появляется только в том случае, когда угол между двумя бензольными кольцами больше  $60^\circ$ ; такой угол (и, следовательно, активность) обеспечивается, например, при наличии четырех метильных групп (или двух этильных) [866].



Бретилий  
(11.3)





Далее в этой главе будет рассматриваться зависимость некоторых биологических свойств от оптической и геометрической изомерии и конформационных превращений. После этого речь пойдет о стереохимических взаимоотношениях между некоторыми лекарственными соединениями и их рецепторами. Молекулы многих химиотерапевтических препаратов имеют плоскую структуру, тогда как у большинства веществ, обладающих высокой фармакодинамической активностью, молекулы неплоские. В создании подобных лекарственных соединений главная проблема (гл. 4, разд. 4) состоит не в том, чтобы придать им особенно высокую избирательность в отношении данного рецептора (который часто может и не требовать большой специфичности), а в том, чтобы они не взаимодействовали с другими рецепторами.

### 1. Оптическая изомерия

Если атом углерода связан с четырьмя разными атомами или группами атомов так, как это, к примеру, имеет место в молекуле молочной кислоты (11.5), то молекула может существовать в виде двух изомерных форм, одна из которых является зеркальным изображением другой. Между такими изомерами (энантиоморфные изомеры или «антиподы») нет никакого химического различия, но каждый из них вращает плоскость поляризации в противоположном направлении, хотя по своей величине это вращение одинаково. Энантиоморфные изомеры избирательно адсорбируются на оптически активных поверхностях, таких, как поверхность белка, в связи с чем биологическое действие двух оптических изомеров одного и того же агента может быть совершенно различным. В природе встречается как D-, так и L-молочная кислота, причем всегда в чистой форме, а не в виде рацемата.

В состав белков входят только L-аминокислоты, а это значит, что они все имеют конфигурацию L (—)-серина. Однако (+)-глюкоза, (—)-дезоксирибоза и (—)-фруктоза образуются (путем синтеза или деградации) из молекул D-ряда и, следовательно, имеют конфигурацию D (+)-глицеральдегида. D- и L-конфигурации серина абсолютно точно установлены при помощи рентгеноструктурного анализа. Символы (—) и (+) указывают направление вращения плоскости поляризации, причем (—) не обязательно относится к L-изомерам. Раньше оптические изомеры обозначали символами *d* и *l*, и считалось, что L-аминокислоты всегда левовращающие, но в настоящее время этими обозначениями уже не пользуются.

Кашни [386] был первым, кто понял, что разница в биологическом действии энантиоморфных изомеров объясняется большей степенью соответствия одного из антиподов поверхности рецептора, нежели другого антипода.

<sup>1</sup> Валентности углерода расположены тетраэдрически, так что *a*, *b*, *c* и *d* занимают четыре угла воображаемого тетраэдра. Сплошными линиями обозначены связи, лежащие ближе к наблюдателю, чем связи, отмеченные пунктиром.

Он также отметил, что некоторое понятие о природе рецепторов можно составить, изучив стереохимию лекарственных препаратов, обладающих высокой физиологической активностью. Этот вопрос будет обсуждаться ниже, в разд. 4.

Биологическая активность оптических антиподов может быть весьма различной. Например, D(—)-изопропилнорадреналин (изопреналин) обладает в 800 раз большим бронхорасширяющим действием, чем его L(+)-изомер [1927]. Природный D(—)-изомер адреналина в 12—20 раз (в зависимости от тест-объекта) активнее своего энантиоморфного изомера [186, 1405]. Еще один пример: L(+)-форма ацетил- $\beta$ -метилхолина оказывает на кишечник в 200 раз более активное действие, чем D(—)-форма. Необычная ситуация отмечается у никотина: различие в активностях природной L(—)-формы и ее D-стереоизомера сильно варьирует для разных тест-объектов (в пределах от 1 : 1 до 1 : 40). Однако в тех случаях, когда активность одной из форм выше (а обычно это бывает именно так), более активной всегда оказывается L-форма [111].

Однако часто антиподы обладают одинаковой биологической активностью. Это совершенно понятно для таких структурно неспецифических веществ, как снотворные (гл. 3). Так, например, (+)- и (—)-формы барбитуратов, оптическая активность которых обусловлена включением асимметрического атома углерода в 5-алкильную группу, одинаково активны [828]. И не удивительно, что как (+)-, так и (—)-формы кокаина (4.10) служат одинаково эффективными местноанестезирующими средствами [598]. Среди синтетических лекарственных препаратов можно найти много подобных примеров. В частности, (+)- и (—)-хлорохин (8.28) одинаково активны при малярии [1197]. Предполагается, что во всех подобных случаях либо между группой агента, включающей асимметрический атом углерода, и рецептором имеется только двухточечный контакт либо эта группа вообще не участвует в контакте.

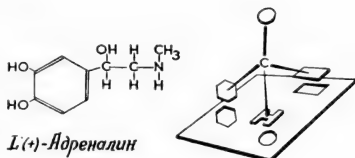
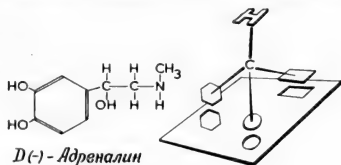
Антагонизм между оптическими изомерами, из которых один активнее другого, встречается редко. Это объясняется тем, что при переходе от D- к L-форме (или наоборот) резко изменяется конфигурация, которая собственно и определяет адсорбцию на рецепторе. По этой причине биологическая активность смеси двух оптических антиподов (рацемата) обычно равна средней величине активностей обеих форм, и никакого антагонизма при этом не отмечается (редкие исключения из этого правила описаны ниже).

Были проведены исследования влияния оптической изомерии на пресорную активность многих адренергических аминов. Было выдвинуто предположение, что молекула D-адреналина имеет с рецептором трехточечный контакт — по аминогруппе, по бензольному кольцу с его двумя фенольными гидроксильными группами и по спиртовой гидроксильной группе боковой цепи. L-адреналин — оптический изомер, обладающий меньшей биологической активностью, — может образовывать с рецептором контакт только по двум группам (фиг. 61). Ясно, что активность дезоксидрадреналина (эпинефрина) должна быть примерно такой же, как у L-адреналина, что и наблюдается в действительности [452]. Эта гипотеза получила дальнейшее развитие и у других авторов [90, 1365].

На примере адреналина удобно коротко изложить вопрос о конфигурациях D- и L-ряда. Путем анализа продуктов деградации было показано, что природный (левовращающий) адреналин и норадреналин имеют одинаковую конфигурацию, а именно конфигурацию D(—)-миндальной кислоты [1159], тогда как L(+)-миндальная кислота имеет конфигурацию L-фенилаланина, входящего в состав белков. Некоторые химикам относятся с недоверием к выводам, сделанным на основе анализа продуктов деградации, особенно для амфотерных веществ, так как в этом случае может происходить рацеми-

зация с последующим обращением конфигурации. Правда, такая возможность кажется маловероятной. Другое возражение заключается в том, что для определения абсолютной конфигурации всех известных оптически активных веществ путем деградации потребовались бы многие десятилетия труда большого числа высококвалифицированных химиков. Для некоторых рядов соединений удается определить абсолютную конфигурацию непосредственно методом измерения дисперсии оптического вращения (т. е. зависимости оптического вращения от длины волны, скажем, в интервале от 270 до 700 м.мк) [431, 832].

Однако имеются и более существенные затруднения. Обозначение *D* и *L* принято для  $\alpha$ -аминокислот и  $\alpha$ -оксикислот, но только для тех, у которых



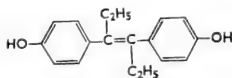
Фиг. 61. Контакт оптических изомеров адреналина с поверхностью, комплементарной одному из них.

Справа вверху — контакт в трех точках, справа внизу — контакт в двух точках (реакция на препарат отсутствует).

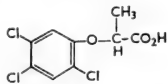
нет второго центра асимметрии. Тот факт, что все аминокислоты в белках относятся к *L*-ряду, а глюкоза и дезоксирибоза — к *D*-ряду (см. выше), вовсе не означает, что живая клетка состоит из белков и углеводов, которые образуют спирали, закрученные в противоположные стороны. Напротив, и те, и другие спирали, как известно, закручены в одну сторону. Это кажущееся противоречие сложилось исторически из-за того, что деградация глюкозы, имеющей много центров асимметрии, проводилась вначале только с одного конца молекулы. Этот урок следует запомнить всем тем, кто изучает молекулы с несколькими асимметрическими атомами.

Для того чтобы преодолеть это затруднение, было введено специальное «Правило последовательности», которое применяется следующим образом [277]. Четыре заместителя при каждом асимметрическом атоме в молекуле обозначаются символами *a*, *b*, *c*, *d* в порядке уменьшения их молекулярного веса. Группа с наименьшим молекулярным весом помещается на оси воображаемого колеса. Тогда три другие группы располагаются по ободу этого колеса, причем принимается, что колесо вращается в направлении  $a \rightarrow b \rightarrow c$ . Если это вращение происходит вправо, то конфигурация называется *R* (rectus) а если влево, то *S* (sinister). Пользоваться этим правилом можно лишь после того, как опытным путем определена последовательность *a*, *b* и *c*; точнее всего это определяется методом дифракции рентгеновских лучей на кристалле по разности фаз, обусловленной рассеянием рентгеновских лучей на одном из асимметрических атомов [173]. Особенно ценно это «Правило последовательности» в том отношении, что позволяет установить соответствие между различными системами (например, между аминокислотами, углеводами, симпатомиметическими средствами и стероидами). Все они соответствуют правовращающему глицеральдегиду, который обозначается *R*, и, следовательно, *L*(—)-серин следует обозначать *S*. В пределах каждого ряда все еще используется метод деградации, так как применение анализа Бийво для каждого соединения было бы затруднительно.

Пользуясь приведенными выше обозначениями, природному (—)-адреналину следует приписать R-конфигурацию, так же как и его синтетическим аналогам синэфрину и фенилэфрину (4.36), отличающимся от адреналина только отсутствием гидроксильной группы при одном из бензольных колец. Эфедрин, имеющий два центра асимметрии, обозначается 1R : 2S.



*Стильбэстрол*  
(11.7)



*Трихлорфеноксипропионовая кислота*  
(11.8)

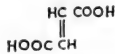
Для действия соединений типа ауксина, обладающих способностью стимулировать рост растений, оптическая изомерия, по-видимому, играет важную роль. Правда, самые активные из этих соединений (например, индолилуксусная, нафталин-2-уксусная и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислоты) не имеют оптических изомеров. Однако в молекуле  $\alpha$ -(2,4,5-трихлорфенокси)пропионовой кислоты (11.8) имеется асимметрический атом углерода. Для объяснения более высокой биологической активности D(+)-изомера было выдвинуто предположение о необходимости трехточечного контакта. Считают, что этот контакт осуществляется следующими тремя группами: бензольным кольцом, карбоксильной группой и атомом водорода в  $\alpha$ -положении боковой цепи. Эта гипотеза имеет известное сходство с гипотезой действия адреналина (фиг. 61). Соединение (11.8) и сходные с ним вещества обладают весьма необычным биологическим свойством: активность их D-изомера сильно снижается в присутствии L-изомера [1345].

## 2. Геометрическая изомерия

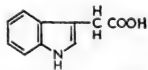
Геометрические изомеры возникают в тех случаях, когда вращение атомов в молекуле ограничено вследствие наличия двойной связи или достаточно жесткой непланарной циклической системы. Примером такой пары геометрических изомеров могут служить малеиновая (11.9) и фумаровая (11.10) кислоты. Видно, что геометрические изомеры имеют одинаковое химическое строение, различие же в пространственном расположении заместителей таково, что они не являются зеркальным отображением друг друга. По этой причине геометрические изомеры не обладают оптической активностью, однако бывают случаи, когда один из них асимметричен и поэтому



(Цис)  
(11.9)



(Транс)  
(11.10)



*Индолилуксусная кислота*  
(11.11)

может существовать в оптически активной форме [примером может служить транс-циклогексан-1,2-дикарбоновая кислота (11.2)]. Цис- и транс-формы, как правило, сильно различаются по физическим и химическим свойствам. Не удивительно, что различаются они и по своему биологическому действию [272].

Интересные примеры геометрической изомерии встречаются среди стимуляторов роста растений. Индолилуксусная кислота (11.11) — наиболее известный природный стимулятор, однако существует много синтетических соединений, оказывающих такого же рода действие на растения. Некоторые синтетические аналоги широко используются в сельском хозяйстве для борьбы с сорняками. Они избирательно вызывают чрезмерный рост сорняков, который приводит к их гибели. Они также содействуют укоренению черенков и способствуют плодоношению в отсутствие опыления. Арилуксусные кислоты, например (3.14), производятся для этой цели в промышленных масштабах.

Индолилуксусная кислота и ее аналоги увеличивают размер клеток, но не скорость клеточного деления, в отличие от кинетина (который относится к пуринам). Для того чтобы вещество могло оказывать такое же действие, как индолилуксусная кислота, оно должно удовлетворять следующим требованиям [838]:

а) кольцо должно содержать по крайней мере одну двойную связь (Вельдстра позднее показал, что должны присутствовать только липофильные заместители);

б) в боковой цепи должна содержаться — COOH-группа или же группа, которая легко преобразуется в карбоксильную;

в) между кольцом и — COOH-группой должен находиться по крайней мере один атом углерода;

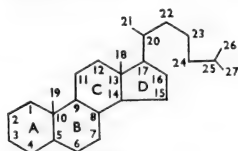
г) — COOH-группа должна быть определенным образом расположена по отношению к циклической системе.

Существенная разница в активности *цис*- и *транс*-изомеров (т. е. геометрических изомеров) может служить иллюстрацией условия «г», представляющего особый интерес с точки зрения стереохимии. Так, *цис*-коричная кислота активна, тогда как ее *транс*-изомер неактивен [623]. Еще { один пример: 2-фенилциклопропан-1-карбоновая и 1,2,3,4-тетрагидронафталинден-1-уксусная кислоты активны только в *цис*-форме [1457]. На молекулярных моделях этих веществ сразу видно, что кольцо и карбоксильная группа в *транс*-изомере (неактивном) лежат в одной плоскости, в то время как в *цис*-форме (активной) они некопланарны. Вельдстра впервые указал на эту связь между некопланарностью и стимулирующей активностью. Следовательно, требование «в» может оказаться излишним в тех случаях, когда имеются стерические препятствия, приводящие к исчезновению резонанса, и группа — COOH окажется выведенной из плоскости. Так, биологически неактивная молекула бензойной кислоты сохраняет плоскую форму вследствие резонанса, тогда как 2,6-дихлорбензойная кислота и 8-метил-1-нафтойная кислота биологически активны и имеют непланарные молекулы [1454, 1456].

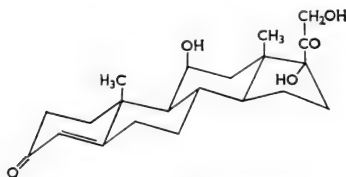
Требование «б» относится только к высокоактивным веществам; — COOH-группа может быть заменена другими отрицательно заряженными группами, например — NO<sub>2</sub> и — SO<sub>3</sub>H, но такие вещества обладают лишь небольшой активностью. При биологических значениях pH первая из этих групп (NO<sub>2</sub>) вообще не ионизована, а вторая (SO<sub>3</sub>H) ионизована полностью, так что ионизация, видимо, играет здесь лишь второстепенную роль. Кроме того, группы — COOH, — NO<sub>2</sub> и — SO<sub>3</sub>H обладают настолько разной реакционной способностью, что не может быть и речи об образовании ковалентной связи с рецептором [1455]. Некоторые исследователи полагают, что действие стимуляторов роста на растения, подобно действию стероидных гормонов на животных (гл. 4, разд. 3), состоит в индукции синтеза ферментов на уровне нуклеиновых кислот.

Геометрическая изомерия стероидов заслуживает специального рассмотрения. Формула (11.12) изображает скелет стероидной молекулы, однако поскольку каждое кольцо деформировано, то строение молекулы можно пред-

ставить более наглядно в боковой проекции (11.13). В формуле (11.12) каждое кольцо помечено буквой и все атомы пронумерованы. В молекулах стероидных гормонов боковая цепь, присоединенная к  $C_{(17)}$ , сильно укорочена или вовсе отсутствует. Кольца В и С всегда образуют *транс*-конфигурацию; это справедливо также для колец С и D (в последнем случае исключение составляет система, существующая в молекулах сердечных гликозидов и ядов жаб); сочленения колец А/В у большинства природных стероидов имеют *транс*-конфигурацию, но в желчных кислотах они имеют *цис*-конфигурацию. Во многих природных гормонах и их синтетических аналогах наличие двойной связи при атоме углерода в положении 5 или 10 исключает возможность как *цис*-, так и *транс*-конфигурации для колец А и В. Соединения с *транс*-расположением А/В относят к  $\alpha$ -ряду, а с *цис*-расположением — к  $\beta$ -ряду. У соединений  $\alpha$ -ряда атом водорода в положении 5 лежит ниже общей плоскости колец. Все заместители, также лежащие ниже этой плоскости, обозначают тоже символом  $\alpha$ , те же, которые лежат выше, — символом  $\beta$ .  $\beta$ -Заместители изображают сплошными линиями, а  $\alpha$ -заместители — пунктиром. Если в положениях 18 и 19 имеются метильные группы, то обе они всегда являются  $\beta$ -заместителями.



Холестерин  
(11.12)



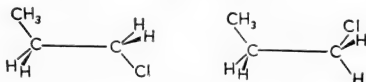
Гидрокортизон  
(11.13)

Как правило, у млекопитающих высокая биологическая активность стероидных соединений связана с отсутствием  $\alpha$ -заместителей в положениях 1, 9, 11—13, 17 и отсутствием  $\beta$ -заместителей в положениях 4—8, 14, 15. Боковая проекция молекулы гидрокортизона (11.13) иллюстрирует это правило. Подробные сведения о стереохимии стероидов содержатся в книге Шоппи [1312].

### 3. Конформация

Хотя вокруг *одинарной* связи возможно свободное вращение, анализ инфракрасных спектров часто показывает, что атомы в молекуле занимают некоторые «предпочтительные» положения. Самая распространенная конформация — такая, при которой два неводородных заместителя располагаются возможно дальше друг от друга. Так, *n*-пропилхлорид, изображенный

на фиг. 62, существует в основном в *вытянутой, заторможенной* форме (ее обозначают и термином «транс», что может вызвать путаницу); гораздо меньше имеется любой из двух *гош*-форм. У большинства молекул энергетический барьер между разными конформациями слишком низок, чтобы можно было разделить чистые конформационные изомеры (конформеры). Однако иногда из-за сильной заторможенности свободного вращения, обусловленной присутствием объемистых атомных группировок, создается возможность для выделения стабильных конформеров в твердом состоянии. Типичным примером могут служить изомерные дифенилы, которые удается разделить, если в обоих бензольных кольцах имеются различные *орто*-заместители, размеры которых не меньше размера метильной группы. Минорные конформеры

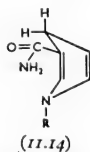


Фиг. 62. При контакте в трех точках биологическое действие имеет место; при двухточечном контакте биологическое действие отсутствует.

Заторможенная конформация (слева) и *гош*-конформация (справа) *n*-пропилхлорида (связи, направленные вперед, обозначены клиньями).

с большим запасом энергии, такие, например, как *гош*-конформер, изображенный на фиг. 62, согласно гипотезе Инга, изложенной в гл. 4, разд. 3, играют важную роль в механизме действия лекарственных препаратов.

Конформационный анализ получил широкое распространение в химии алициклических соединений, в частности стерinov. Заместители могут находиться в двух основных конформациях — *экваториальной* (в плоскости кольца) и *аксиальной* (перпендикулярно этой плоскости). У монозамещенного циклогексана преобладает экваториальный изомер, так как в этой форме атомы водорода испытывают наименьшие пространственные препятствия. В циклических соединениях, содержащих большое число заместителей, некоторые из этих заместителей обязательно занимают аксиальное положение.



(*R*-рибозилдифосфаденозин)

Из-за того что аксиальные группы испытывают наибольшие пространственные затруднения, экваториальные гидроксильные и карбоксильные группы легче эстерифицируются, а их производные легче гидролизуются. Часто конформационная изомерия накладывается на геометрическую: так, в молекуле кокаина присутствует аксиальная, а в молекуле  $\psi$ -кокаина — экваториальная метоксикарбонильная группа.

Приведем пример стереоспецифичности коферментов. Оказывается, что различные представители группы ферментов, использующих в качестве кофермента восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАД-Н) (11.14), способны различать аксиальный и экваториальный атомы водорода

в положении 4. Это можно легко показать, замещая каждый из этих атомов по очереди на атомы дейтерия. Абсолютная конформация лабильных атомов водорода в молекуле НАД·Н была определена Корнфортом и др. [357].

Очевидно, что даже самое незначительное изменение химической структуры может привести к резкому изменению конформации и, следовательно, биологической активности. Подробно вопросы конформационной (поворотной) изомерии изложены у Бартон и Куксона [121], а также Даубена и Питцена [398], а общие аспекты стереохимии у Шрайнера и др. [1313] и Элиела [472].

#### 4. Лекарственные вещества и их рецепторы

Были предприняты попытки установить связь между размерами молекул и их фармакологической активностью. Шюлер [1287] обнаружил, что все эстрогенные вещества содержат две группы, способные к образованию водородной связи, расположенные на расстоянии 14,5 Å друг от друга; он полагает, что именно это определяет эстрогенную активность, и отмечает далее, что это расстояние в 4 раза больше, чем расстояние между соседними аминокислотными остатками в белке. Этому совпадению, впрочем, не следует придавать особого значения, так как эстрогены обнаруживают свою активность только в строго определенных областях, тогда как активные белки различного типа встречаются в организме всюду. Подобные соображения представляют большой интерес в тех случаях, когда речь идет о межатомных расстояниях в связи с вполне определенным рецептором.

Рецепторы синаптических медиаторов весьма специфичны. Так, L-ацетил-β-метилхолин (11.26), который имитирует мускариноподобное действие ацетилхолина, по крайней мере в 200 раз активнее, чем его D-энантиоморфный изомер (см. ниже). Более высокая активность D-норадреналина по сравнению с его L-изомером была рассмотрена выше (разд. 1).

Первые гипотезы взаимодействия атомов субстрата с активными центрами фермента принадлежат Холдейну [633]. В настоящее время этот вопрос разрабатывается весьма детально; большой интерес, в частности, представляет схема, предложенная Уотсом и Рейбином [1501] для фосфорилирования креатина креатинкиназой. Для этого фермента является весьма существенным взаимное расположение остатков цистеина и гистидина. В разд. 4.6 (см. ниже) будут обсуждаться попытки создания такого рода схем для ацетилхолинэстеразы, а в разд. 4, в, — для ацетилхолинорецептора. В ближайшем разд. будет рассмотрен вопрос о рецепторах для катехоламинов.

Сведения о методах исследования активных центров в ферментах излагаются во введении к гл. 6, а также в книге Косовера [844] и в периодической литературе.

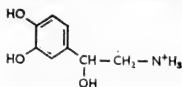
##### а. Катехоламинорецепторы

Первые работы, посвященные вопросу о связи между строением и активностью в ряду фенилэтиламиновых симпатомиметических средств, были проведены в 1910 г. Барджером и Дейлом [106]. Было установлено, что наиболее активными и в качестве гормонов, и в качестве медиаторов оказываются вещества, содержащие гидроксильные группы в положениях 3 и 4 бензольного кольца, т. е. «катехоламины», например норадреналин, адреналин, изопреналин и допамин. Симпатомиметическое действие многих других фенилэтиламинов, по-видимому, связано с их способностью выделять катехоламины из их депо [264].

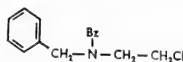
Раньше существовало предположение, что действие норадреналина опосредуется через его окисление моноаминоксидазой; однако эксперименты с дважды α-дейтерированным норадреналином показали, что это не так



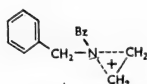
[143]. Более того, активность норадrenalина не снижается при действии ингибиторов моноаминоксидазы, таких, как ипрониазид [548]. В настоящее время считается, что первоначально норадrenalин присоединяется к рецептору через «усиленную водородной связью ионную связь», образуемую катионом (11.15). Энергия такой связи равна примерно 10 ккал/моль (табл. 16). Эта связь далее усиливается водородной связью с  $\beta$ -гидроксильной группой, в отсутствие которой, как обнаружили Барджер и Дейл [106], активность



Норадrenalин (катион)  
(11.15)



Дибенaмин  
(11.16)



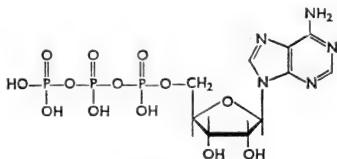
Дибениминий  
(11.17)

сильно снижается (это уже обсуждалось в разд. 4). Не содержащий азота изостер норадrenalина, у которого группа  $H_3N^+$  — замещена на  $-OCH_3$ , вообще неактивен [792].

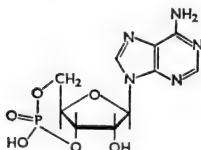
Дибенaмин (11.16) препятствует действию катехоламинов на  $\alpha$ -рецепторы (определение будет дано ниже). Он становится физиологически активным только после его самокватернизации в ион дибениминия (11.17) [1055]. Заряд этого иона распределен между азотом и связанными с ним двумя атомами углерода. Стерическое сходство норадrenalина с катионом дибениминия было замечено Белло [143], который указал на то, что между бензольным кольцом и заряженным атомом азота в первом случае и между бензольным кольцом и заряженным атомом углерода во втором расстоянии одинаковы. Однако дибенaмин блокирует не только рецепторы катехоламинов, но также и ацетилхолино- и гистаминорецепторы. Поэтому его нельзя рассматривать как высокоспецифический реагент. Вследствие этого он мало способствовал выяснению механизма действия катехоламинов и в этом смысле не оправдал возлагаемых на него надежд [1231]. Сведения о связи между структурой и активностью веществ дибенаминового ряда можно найти в монографии Грэхэма [602].

Действие адреналина направлено на фермент аденилциклазу, которая, возможно, и является его рецептором. Анализ фракций, полученных при центрифугировании разрушенных клеток, показал, что аденилциклаза входит в состав цитоплазматической мембраны. Под действием адреналина этот фермент приобретает способность превращать АТФ (аденозинтрифосфат) (11.18) в циклоадениловую кислоту (11.19)•(3', 5'-АМФ). Для осуществления этой реакции необходимы ионы магния; в качестве побочного продукта образуется пирофосфорная кислота [1175]. Физиологическое назначение 3', 5'-АМФ — активация фермента фосфорилазы, что ведет к стимуляции различных физиологических процессов — сердечной деятельности, гликолиза в печени, а также других, в основе которых лежит реакция на адреналин. Несмотря на то что 3', 5'-АМФ — соединение химически устойчивое, оно легко гидролизруется до 5'-аденозинмонофосфата особым ферментом, столь же широко распространенным в природе, как и 3', 5'-АМФ. Метилксантины, в том числе кофеин, избирательно тормозят действие этого фермента;

вероятно, это ингибирование лежит в основе стимулирующего действия кофеина (11.20) на центральную нервную систему и почки. Предполагается, что метилированные ксантины являются антиметаболитами аденина (11.21).



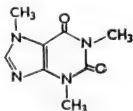
АТФ  
(11.18)



3',5'-АМФ  
(11.19)

Циклоадениловая кислота выделяется уже через 3 сек после введения адреналина в сердце. В этом отношении изопреналин еще более эффективен, чем адреналин, тогда как норадреналин менее эффективен. По-видимому, 3',5'-АМФ является общим для всех позвоночных «вторичным гормоном». Так, диуретическое действие вазопрессина состоит в том, что он высвобождает эту кислоту. Подобным же образом АКТГ воздействует на кору надпочечников. Само собой разумеется, что рецепторы этих гормонов должны обладать способностью их различать [1394].

Наличие очевидной прямой связи между действием адреналина на некоторые активные участки рецепторов, с одной стороны, и синтезом 3',5'-АМФ с помощью аденилциклазы — с другой, привело к появлению целого ряда гипотез относительно природы химических реакций, связывающих эти два процесса.



Кофеин  
(11.20)



Аденин  
(11.21)

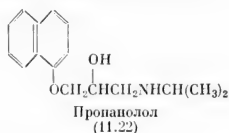
Белло [144] предположил, во-первых, что АТФ, который служит субстратом аденилциклазы, представляет собой неотъемлемую часть поверхности всех адренергических рецепторов, во-вторых, что для осуществления  $\alpha$ -реакций (определение см. ниже) необходимо образование ионной пары из протонированной аминогруппы адреналина и 5'-фосфатной группы АТФ (т. е. анионом, ближайшим к аденину) и, в-третьих, что для осуществления  $\beta$ -реакций

требуется наличие двух фенольных атомов кислорода в бензольном кольце, необходимых для образования комплекса с ионом магния и двумя фосфатными остатками, наиболее удаленными от аденина в молекуле АТФ.

Более динамичная роль отводится адреналину в гипотезе Блума и Гоулдмена [192]. Они представляют себе адренергические рецепторы не просто как ферменты, а как фермент-субстратные комплексы.  $\beta$ -Рецептор (определение см. ниже) почти наверняка состоит из фермента аденилциклазы и АТФ.  $\alpha$ -Рецептором может служить этот же фермент в другой части клетки [1209]. Под действием адреналина всегда происходит разрушение субстрата (АТФ); следовательно, действие этого гормона приводит к повреждению рецептора. Однако до тех пор, пока в клетке остается свободный субстрат, рецептор может быстро восстанавливаться. По мнению Блума и Гоулдмена, природой аминогруппы в первую очередь определяется взаимодействие с  $\alpha$ - или соответственно с  $\beta$ -рецепторами; алифатическим и ароматическим гидроксильным группам отводится второстепенная роль — фиксация гормона и потенцирование реакции.

Более подробно эта гипотеза обсуждается в первоисточнике [192].

Предположение о существовании двух различных адренергических рецепторов впервые было выдвинуто Альквистом [18]. Реакции, вызываемые легче всего адреналином и труднее всего изопреналином, которые представляют собой, соответственно, *N*-метил- и *N*-изопропилпроизводное соединения (11.15), связывают с  $\alpha$ -рецепторами. Норадреналин по своей активности занимает промежуточное положение между этими двумя катехоламинами. Другого типа реакции, легко осуществляемые как изопреналином, так и адреналином, и лишь с трудом — норадреналином, приписывают  $\beta$ -рецепторам. К типичным  $\alpha$ -реакциям относятся сужение кровеносных сосудов, сокращение матки, расслабление кишечника, а типичными  $\beta$ -реакциями — расширение кровеносных сосудов, расслабление мускулатуры матки, стимуляция гликогенолиза в мышце, тахикардия [905].



Норадреналин стимулирует преимущественно  $\alpha$ -рецепторы, *N*-*tert*-бутилнорадреналин (с его сильно разветвленной алкильной группой) — в основном  $\beta$ -рецепторы, а адреналин воздействует на оба типа рецепторов. Усиление  $\beta$ -стимуляции с увеличением степени разветвленности *N*-алкильной группы, возможно, обусловлено тем, что при этом возрастает роль стерических препятствий, или, как полагает Пратези [1158], усиливается индукционный эффект алкильной группы, и, наоборот,  $\alpha$ -стимуляция облегчается способностью к образованию водородной связи за счет первичной аминогруппы норадреналина. Как  $\alpha$ - так и  $\beta$ -стимуляторы более эффективны, если они являются *D*-энантиомерными изомерами (гл. 11, разд. 1).

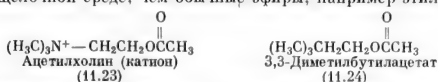
Некоторые авторы полагают, что блокирование  $\alpha$ -рецепторов дибенамином (11.16) состоит в алкилировании субстрата (АТФ) [192]; другие считают, что алкилируется какая-то несущественная группа в полипептидной цепи фермента, не входящая в активный центр, но расположенная к нему достаточно близко для того, чтобы создать стерические затруднения, связанные с увеличением размеров этой группы. И действительно, в результате обработки трипсином ингибирование  $\alpha$ -рецепторов снимается [603]. Многие, однако, считают, что алкилирование не играет никакой роли в действии дибенамина и его аналогов, в частности феноксибензамина. Блокирование

$\beta$ -рецепторов было впервые осуществлено при помощи дихлоризопреналина (4.38), однако он обладает настолько слабым действием, что не имеет смысла использовать его в клинике. В настоящее время в распоряжении врачей имеется очень активный  $\beta$ -блокатор — пропранолол (11.22) (индерал), который представляет собой 1-изопропиламино-3-(1-нафтилокси)-2-пропанол. Он широко применяется при стенокардии и аритмиях.

Сведения о взаимодействии катехоламинов с соответствующими рецепторами см. у Эчесона [5]; о попытках выделить два подкласса  $\beta$ -рецепторов см. у Лендса и др. [873].

#### 6. Ацетилхолинэстераза

В отсутствие фермента ацетилхолин (11.23) в холодном водном растворе устойчив в кислой среде, но неустойчив в щелочной среде с  $\text{pH} > 10$ . Величины констант скорости его гидролиза свидетельствуют о том, что заряженный атом азота притягивает атакующие гидроксильные ионы в сфере расположения эфирной группы; поэтому ацетилхолин значительно легче гидролизуется в щелочной среде, чем обычные эфиры, например этилацетат [274].



На различных типах синапсов у кошек и лягушек было определено, что при каждом нервном импульсе из нервного окончания выделяется  $1,5 \cdot 10^{-10}$  мкг, т. е. примерно 1 млн. молекул ацетилхолина [1493]. После взаимодействия со специфическим рецептором ацетилхолин разрушается ферментом ацетилхолинэстеразой. На поверхности концевой пластинки мышцы содержится достаточно этого фермента, чтобы расщепить 1 млрд. молекул ацетилхолина за 1 мсек, а это в тысячу раз превышает число молекул ацетилхолина, необходимое для деполяризации концевой пластинки [1033]. (Механизм передачи нервных импульсов на синапсах вкратце изложен в гл. 4, разд. 3.)

Ацетилхолинэстеразу можно получить в высокоочищенном состоянии путем экстракции из электрического органа угря *Electrophorus electricus*. Она представляет собой обычный фермент, гидролизующий сложные эфиры, однако от других эстераз она отличается большей эффективностью в отношении эфиров, содержащих катионную группу на расстоянии примерно 5 Å от кислородного мостика сложноэфирной группы.

Ацетилхолин всегда существует в форме катиона; степень его ионизации не зависит от pH среды. По данным Уилсона и Бергмана [1552], константа диссоциации комплекса ацетилхолин — фермент равна  $2,6 \cdot 10^{-4}$ . Изучая зависимость эффективности фермента от pH среды<sup>1</sup>, они установили, что этот фермент имеет основную группу с  $\text{pK}_a$ , равным 7,2 (скорее всего, это имидазольное кольцо остатка гистидина), и кислотную группу с  $\text{pK}_a$ , равным 9,3 (по-видимому, остаток тирозина). Предполагается, что комплекс фермент — субстрат образуется за счет ионной связи между четвертичной аммониевой группой в ацетилхолине и анионной группой с  $\text{pK}_a$  9,3 в ферментном белке, а также за счет диполь-дипольного взаимодействия между атомом азота, стоящим при двойной связи имидазольного кольца, и дробным положительным зарядом на атоме углерода в  $\text{C}=\text{O}$ -группе эфира (см. обзор Девиса и Грина [402]). Таким образом, считается, что этот фермент имеет два активных участка, а именно анионный, связывающий катионную группу субстрата, и эстератический, который сначала связывает, а затем гидроли-

<sup>1</sup> Источники ошибок при таком методе определения величин  $\text{pK}$  для ферментов обсуждаются у Косовера [844].

зует сложноэфирную группу (термин «эстератический» введен Уилсоном и Бергманом [1552]) (фиг. 63).

Вначале предполагали, что притяжение эфирной группы эстератическим участком может усиливаться благодаря образованию «водородной связи» между кислотной группой фермента и одним из атомов кислорода. Позднее возникло предположение, что образуется ковалентная связь между атомом кислорода карбонильной группы ацетилхолина и гидроксильной группой остатка серина<sup>1</sup>.

Основанием для этого предположения послужил тот факт, что органические фосфаты, например диизопропилфторфосфат (10.16), фосфорилируют сериновый остаток фермента (но не сам серин) и что в этом участке

Фиг. 63. Активный участок ацетилхолинэстеразы [1551, 1552].

В первоначальном варианте символ G обозначал «глиноксалин», синоним имидазола.



имеется последовательность аминокислот Глу-Сер-Ала [1264] (гл. 6, введение). Отсюда был сделан вывод, что ацетильная группа ацетилхолина притягивается к гидроксильной группе серинового остатка фермента и ацилирует ее [1553]. Функция имидазольной группы, расположенной на другой складке молекулы ферментного белка, возможно, состоит в том, чтобы способствовать гидролизу ацетилированной группы серина. Вероятно, из-за того, что эти реакции несколько разделены во времени, получило распространение упрощенное изображение (фиг. 63) активного центра ацетилхолинэстеразы [1551]. Используя ингибиторы с жесткой структурой, установили, что два главных центра связывания расположены в молекуле фермента на расстоянии 2,5 Å друг от друга [541]. Для действия органических фосфатов, которые являются сильными ингибиторами холинэстеразы, участие анионного центра не требуется. Эти и другие инактиваторы и реактиваторы описаны в гл. 10, разд. 3.

После того как обнаружили, что 3,3-диметилбутилацетат (11.24) и ацетилхолин одинаково легко гидролизуются ацетилхолинэстеразой, стало понятно, что вандерваальсова энергия метильных групп (оказывающих катюп ацетилхолина) играет такую же важную роль в процессе взаимодействия природного медиатора с ферментом, как и положительный заряд [1529]. Это привело к появлению нового представления о комплексе фермент — субстрат (фиг. 64).

#### в. Ацетилхолинорецепторы<sup>2</sup>

Ацетилхолин служит природным медиатором в синапсах четырех основных видов: а) соединения произвольный нерв — произвольная мышца, б) ганглионарные синапсы, представляющие собой соединения нерв — нерв в автономной системе, в) парасимпатические постганглионарные синапсы и г) соединения волокон спинальных корешков с клетками Реншоу [382]. Никотин имитирует действие ацетилхолина в синапсах первых двух видов, а мускарин — в синапсах третьего вида. Парасимпатические постганглионарные синапсы часто представляют собой соединение нерв — произвольная

<sup>1</sup> По этому вопросу см. также: Яковлев В. А., Волкова Р. И., Исследование активных центров холинэстераз с помощью фосфорорганических ингибиторов, ДАН СССР, 146, 217, 1962; К а б а ч и к М. И. и др., Гидрофобные области активной поверхности холинэстераз, Успехи химии, 39, 1050, 1970. — *Прим. ред.*

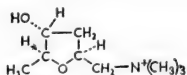
<sup>2</sup> По этому вопросу см. также: М и х е л ь с о н М. Я., З е й м а н ь Э. В., Ацетилхолин (о молекулярном механизме действия), изд-во «Наука», Л., 1970. — *Прим. ред.*

мышца. Вероятно, существует сходство в поведении мышц всех типов, и действие ацетилхолина, по-видимому, в основном сходно в каждой из них (он вызывает изменение проницаемости плазматических мембран для неорганических катионов), однако *гладкие* мышцы реагируют на действие ацетилхолина значительно медленнее, чем *поперечнополосатые*. На сердечную мышцу ацетилхолин действует не так, как на другие: он увеличивает степень ее поляризации, тогда как во всех других мышцах он уменьшает поляризацию. На ганглионарный синапс ацетилхолин оказывает быстрое действие, в основных чертах сходное с его действием на произвольное нервно-мышечное соединение; однако действие антагонистов ацетилхолина на эти два вида синапсов может быть совершенно различным.

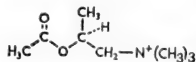
Из всех синапсов с холинергическим механизмом передачи лучше всех изучено произвольное нервно-мышечное соединение. Его структура, видимая даже в обычный микроскоп, предстала перед нами во всей своей необычайной сложности, после того как для ее изучения стали использовать методы электронной микроскопии, электрофизические измерения, исследование ацетилхолинэстеразы, пузырьков ацетилхолина, а также методы радиоавтографии. Однако все эти исследования мало что дали для понимания природы рецепторов в концевых пластинках. Применение агонистов (лекарственных препаратов, имитирующих действие ацетилхолина) и антагонистов позволило узнать об этих, а также о ганглионарных рецепторах несколько больше, но еще эффективнее этот метод оказался при изучении постганглионарных синапсов, т. е. тех, на которые действует мускарин (11.25). Поэтому мы и начнем обсуждение с «мускариновых», а не с «никотиновых» рецепторов ацетилхолина (эта классификация была введена Дейлом [391]).

И ацетилхолинэстераза, и холинергические рецепторы специфичны в отношении ацетилхолина и подобных ему соединений и, по-видимому, имеют сходную структуру. Однако между ними есть и существенное различие. Рецептор в отличие от фермента не гидролизует ацетилхолин и, следовательно, не обладает эстератическим центром. Далее, диметилбутилацетат (11.24), будучи достаточно хорошим субстратом для фермента, не активирует рецептор, тогда как мускарин, который не является субстратом фермента, сильно активирует рецептор.

Очевидно, что рецептор обязательно должен иметь анионный центр, поскольку лишь вещества основного характера обладают ацетилхолиноподобным действием. Очевидно также, что мускариновый центр отличается стереоспецифичностью, так как L(+)-форма метахолина (β-метилацетилхолин) (11.26) по меньшей мере в 200 раз активнее его D(—)-энантиомерного изомера [476]. (Мускариновое действие метахолина составляет 50% мускариновой активности ацетилхолина, но никотиноподобным действием



L(+)-мускарин (природный изомер)  
(11.25)

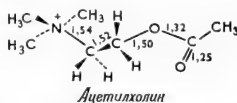


L(+)-ацетил-β-метилхолин  
(11.26)

он, в отличие от ацетилхолина, не обладает.) Равновесное расстояние между четвертичным атомом азота в молекуле ацетилхолина и отрицательно заряженной группой рецептора удастся вычислить по разности в свободной энергии взаимодействия рецептора с ацетилхолином (11.23) и с диметилбутилацетатом (11.24); это расстояние равно 3,29 Å. Диметилбутилацетат, головка которого изостерична катионной головке ацетилхолина, не обладает основными свойствами и действует в 3,17 раз слабее, чем ацетилхолин,

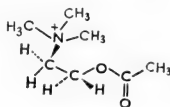
на подвздошную кишку морской свинки. Это расстояние практически совпадает с расстоянием наибольшего сближения, вычисленным по молекулярным моделям [258].

После многократных попыток была получена достаточно надежная рентгенограмма ацетилхолинбромида [286]. Формула (II.27) изображает двумерную проекцию, длины связей приведены в Å для молекулы ацетилхолинбромида [286]. Межатомные расстояния между N-метильным атомом углерода и эфирным атомом кислорода (т. е. атомом кислорода, связанным с двумя атомами углерода) равно 3,02 Å, а между азотом и эфирным кислородом — 3,29 Å (оба эти расстояния короче, чем обычно). Оба атома кислорода находятся в одной плоскости с тремя атомами углерода, расположенными в правой части молекулы (II.27). Таким образом, геометрия молекул ацетилхолина и мускарина (II.29) [779] (рассмотренная выше) отличается заметным сходством.



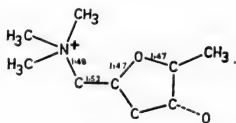
(II.27)

(по данным рентгеноструктурного анализа;  
длины связей в Å)



(II.28)

(по данным ядерного магнитного резонанса)



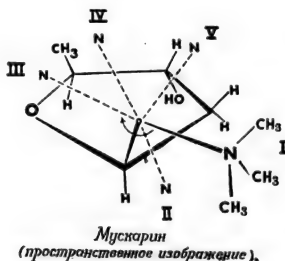
(II.29)

(по данным рентгеноструктурного анализа)

Следует отметить, что эти данные относятся только к веществам в твердом состоянии.

В молекуле ацетилхолина свободное вращение возможно почти вокруг всех связей, поэтому в растворе форма его молекулы может быть совсем иной, чем в кристалле, где она окружена другими молекулами ацетилхолина. Конформация ацетилхолинхлорида в водном растворе изучалась методом ядерного магнитного резонанса [376]. Полученные результаты хорошо согласуются с данными рентгеноструктурного анализа. Оба метода пока-

зали, что цепь  $N^+CSO$  имеет *gauche*-конформацию, а группа  $H_2COCOSCH_3$  относится к семейству конформеров, обычных для первичных эфиров, например этилацетата. По данным рентгеноструктурного анализа, атомы водорода в группе  $-CH_2O-$  расположены несимметрично относительно плоскости эфирной группы. Однако эта весьма необычная деталь имеет второстепенное значение. Для многих 1,2-дизамещенных производных этана (например,



11.30

холинхлорида и этиленгликоля) как в растворе, так и в кристалле предпочтительной является *gauche*-конформация. Таким образом, конформация ацетилхолина представляется весьма обычной. Структура, предложенная Кальвенором и Хемом [376], изображена на схеме (11.28).

Благодаря жесткости циклической структуры мускарина с его помощью удастся получить больше сведений о размерах мускариновых рецепторов ацетилхолина, чем с помощью ацетилхолина [1494]. Известно семь стереоизомеров мускарина, но только природный L-(+)-мускарин обладает высокой ацетилхолиноподобной активностью. Атом азота должен быть четвертичным, а кислород в кольце нельзя заменить на серу, иначе активность пропадает. Исходя из всех этих фактов, Вазер [1492—1494] пришел к выводу, что мускарин связывается с рецептором посредством атома азота и атома кислорода, входящего в кольцо. Жесткость этого кольца обеспечивает фиксированное положение гидроксильной и метильной групп, и только триметиламмониевая группировка в боковой цепи обладает подвижностью. Некоторые из возможных положений, которые эта группа может занимать, обозначены римскими цифрами на схеме (11.30).

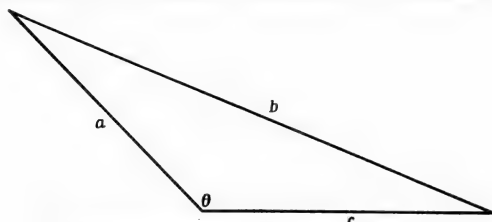
Однако существует весьма распространенное мнение, что связывание происходит не по двум, а по следующим трем группам: четвертичная аммониевая группа, эфирный атом кислорода (в кольце) и гидроксильная группа [131, 132, 137]. Сторонники этой точки зрения полагают, что три указанные группы расположены в углах треугольника, размеры которого приводятся на схеме (11.31). Тот участок рецептора, который связывает эфирный конец молекулы ацетилхолина, можно называть эстерофильным участком в отличие от эстератического центра ацетилхолинэстеразы [819].

Отношение активности L-мускарина к активности ацетилхолина для различных постганглионарных холинергических рецепторов колеблется от 0,1 до 5,4. Активны только те изомеры и аналоги мускарина, у которых метильная, гидроксильная и оиевая группы боковой цепи расположены так же, как и в молекуле мускарина.

Интересно далее рассмотреть вопрос о том, какие еще структурные модификации ацетилхолина и мускарина могли бы обладать высокой ацетилхолиноподобной активностью. Но прежде чем перейти к этому вопросу,

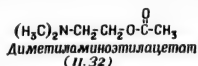


следует отметить, что все приведенные выше данные являются полуколичественными, и для уточнения их требуется проведение дополнительных экспериментов. Дело в том, что активность каждого вещества определяется двумя факторами: его *внутренней активностью* и *сродством* (стр. 139).



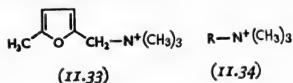
Мускариновый рецептор ацетилхолина (схема)  
(11.31)

$$a = 2,0 - 2,5 \text{ \AA}; b = \sim 5 \text{ \AA}; c = \sim 2,5 \text{ \AA}; \theta = \sim 130^\circ$$



Так, катион диметиламиноэтилацетата (11.32), третичного аналога ацетилхолина (11.23), почти не обнаруживает мускариновой активности. В действительности же его внутренняя активность даже выше, чем у ацетилхолина, а низкая активность его обусловлена весьма малым сродством — в 1000 раз меньше, чем сродство ацетилхолина [582]. Ниже описаны вещества, для которых такого рода анализ еще не проводился.

5-Метил-2-триметиламмонийметилфуран (11.33) (5-метилфуртретоний) обладает такой же мускариновой активностью, как ацетилхолин, и почти не обладает никотиновой активностью [78]. Подобно мускарину это соединение содержит в своей молекуле жесткое плоское кольцо, но  $-\text{CH}_2-$  группа заместителя  $-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  закреплена в плоскости чертежа, и поэтому форма молекулы задана. Следует также отметить, что в отличие от мускарина здесь отсутствует гидроксильная группа, и стереоизомерия здесь невозможна. По-видимому, соединение (11.33) в большей степени, чем какое-либо другое, окажется полезным при выяснении структуры мускариновых рецепторов ацетилхолина (см. ниже об аналогичном подходе к вопросу о никотиновых рецепторах).



**Катионная головка ацетилхолина.** Интересно сравнить действие ацетилхолина с действием неорганических катионов, находящихся, вероятно, на поверхности рецептора. Калий, например, оказывает стимулирующее действие на всю мышцу, тогда как действие ацетилхолина обычно ограничивается незначительной областью мышцы — концевой пластинкой.

Экранирующее влияние алкильных групп (при атоме азота четвертичного амина) приводит к тому, что ион непрочно соединяется с гидратирующими молекулами воды. Поэтому эффективный радиус иона в растворе

Таблица 47

## Размеры некоторых катионов

Катион	Радиусы негидратированных ионов (кристаллические радиусы) [1107], Å	Предполагаемые радиусы гидратированных ионов (по подвижности в воде при 25° С) [654], Å
Li <sup>+</sup>	0,60	2,30
Na <sup>+</sup>	0,95	1,79
K <sup>+</sup>	1,33	1,22
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,48	
N(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2,41 [782]	
Mg <sup>2+</sup>	0,65	3,44
Ca <sup>2+</sup>	0,99	3,05

можно принять равным ионному радиусу, полученному на основании данных рентгеноструктурного анализа. Ионный радиус тетраметиламмония равен 3,2 Å (табл. 47); таким же должен быть радиус катионной головки ацетилхолина (катионная головка является самой широкой частью молекулы). Радиусы всех неорганических ионов в безводном состоянии хорошо известны, однако ионы легких металлов сильно гидратированы в водных растворах и их эффективный радиус значительно больше; однако насколько больше, сказать определенно нельзя, так как точных методов для таких измерений пока не существует. Все же величины, приведенные для ионов Li<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> в последнем столбце табл. 47, показательны. Едва ли можно сомневаться в том, что катион ацетилхолина больше тех одновалентных катионов, которые могут находиться вблизи рецептора; по-видимому, катион ацетилхолина по своим размерам близок к гидратированному катиону кальция.

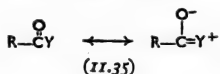
Прежде чем перейти к обсуждению эффекта, который достигается в результате увеличения размера катионной головки ацетилхолина, следует сказать несколько слов об ацетилхолиноподобном действии простых алифатических четвертичных аминов. Они оказывают лишь слабое действие на мускариновые рецепторы и сильное — на никотиновые (см. ниже). Например, действие солей тетраметиламмония на кишечник и сердце примерно в тысячу раз слабее, чем действие ацетилхолина [32]. Соли тетраэтиламмония и в еще большей степени его высших гомологов являются только антагонистами. Тем не менее гомологический ряд солей алкилтриметиламмония (11.34) представляет большой интерес. Сродство к рецептору в этом ряду увеличивается с возрастанием длины алкильной цепи, а эффективность снижается от тетраметиламмония к этилтриметиламмонiu и затем растет, достигая максимума у солей *n*-пентилтриметиламмония (исследовалось их действие на кишечник млекопитающих [1280, 1373], на сердце лягушки [1178], на кровяное давление собаки [60]). Эти и другие факты дали возможность сформулировать «правило пяти атомов» (см. ниже). Однако активность даже самых эффективных соединений этого ряда не превышает 1% активности ацетилхолина.

**Изменение катионной головки ацетилхолина.** Последовательная замена метильных групп в молекуле ацетилхолина (11.23) на атомы водорода или этильные группы приводит к резкому снижению всех видов парасимпатомиметической активности [744]. Выше уже упоминалось, что замещение на атомы водорода сопровождается уменьшением сродства и увеличением эффективности. Этильная группа, напротив, по-видимому, снижает сродство, но повышает эффективность [113]. Третичные амины типа (11.32) при pH 7,3 ионизованы по меньшей мере на 99%. Следовательно, падение основности не является причиной снижения сродства; более того, за счет усиления

пленной связи некваaternизованного амина водородной связью может обеспечиваться более прочная связь с соответствующим рецептором (гл. 5, разд. 1). Однако для связи с ацетилхолиновым рецептором, по-видимому, требуется неперенное наличие сильного вандерваальсова взаимодействия с головкой ацетилхолина [720]. Возможно, в рецепторе имеется чашеобразное углубление, форма которого обеспечивает максимальное вандерваальсово взаимодействие с четырьмя атомами углерода, расположенными тетраэдрически относительно четвертичного атома азота (фиг. 64). Противоположный эффект в результате замещения трех метильных групп тремя этильными наблюдался и в ряду многих других веществ с ацетилхолиноподобными свойствами [114].

Простые третичные амины не проявляют заметной мускариновой активности, но она может возникнуть, если остальная часть молекулы этих аминов приобретет способность прочно связываться с рецептором. Энергия связи карбопильной группы с рецептором может быть повышена, если неподеленная пара электронов, находящаяся на атоме кислорода, будет более делокализована, чем это имеет место в сложных эфирах. Подобная делокализация электронов хорошо известна для амидов и производных мочевины (11.35). О величине этого эффекта можно судить по положению полосы карбонильной группы в инфракрасном спектре. Смещение полосы поглощения от частоты, типичной для всех эфиров ( $1735\text{ см}^{-1}$ ), до частоты, типичной для амидов ( $1690\text{ см}^{-1}$  для свободных и  $1650\text{ см}^{-1}$  для ассоциированных амидов), сопровождается резким повышением мускариновой активности третичных оснований, почти до активности четвертичных [131, 132]. Однако это еще не все: ареколин (11.40), одно из наиболее активных лекарственных веществ с мускариновым действием, имеет третичную аминогруппу и обычную сложноефирную группу. Внутренняя активность ареколина выше, чем ацетилхолина, но ареколин (подобно некоторым другим циклическим аминам) более эффективен в качестве лекарственного препарата, чем его четвертичный (метильный) аналог, обладающий слишком высоким средством и поэтому действующий в основном как ингибитор [582].

Пилокарпин (11.41), другой третичный амин, содержащий эфирную группу (это циклический эфир или «лактон»), обнаруживает умеренную



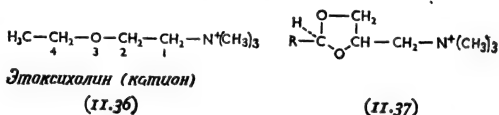
(за счет антагонистического эффекта) мускариновую активность [1232].

Активность аналогов ацетилхолина, у которых атом азота замещен фосфором или мышьяком, составляет всего от 1 до 10% активности ацетилхолина (на различных участках). В таких соединениях углы между связями в результате замещения азота не изменяются, но увеличивается на 27—35% среднее расстояние между метильными группами, поскольку связи P—C и As—C длиннее, чем связь N—C [720].

*Правило «пяти атомов в боковой цепи».* Тот факт, что необходимым условием высокой эффективности ацетилхолиноподобных веществ является наличие пяти атомов в боковой цепи, был впервые замечен Аллесом и Кнейфелем [60], а затем запово открыт и подтвержден Ингом [744]. У ацетилхолина и его аналогов типа  $\text{R}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  самым активным членом в любом гомологическом ряду обычно оказывается тот, у которого R представляет собой цепь из пяти атомов (не считая атомов водорода). Эта закономерность уже обсуждалась выше для случая, когда R представляет собой алкильную группу. Это правило справедливо также для тех случаев, когда некоторые из атомов углерода замещены, например, кислородом. Так, ацетилхолин (11.23) значительно активнее формил- и пропионилхолина, а бутирил- и вале-

рилохолины имеют едва заметную мускариновую активность. И азотистый, и азотнокислый эфиры холина, содержащие боковую цепь из 5 атомов, обладают значительной мускариновой активностью [391]. Укусные эфиры соединений  $\text{HO} - \text{CH}_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  и  $\text{HO} - (\text{CH}_2)_3 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  менее активны, чем соответствующий эфир холина  $\text{HO} - (\text{CH}_2)_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  [732].

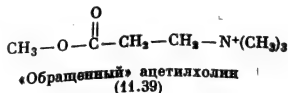
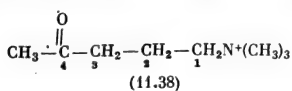
Точно так же этиловый эфир холина (11.36) активнее, чем метиловый или пропиловый эфир [391], а *n*-пропиловый эфир является самым активным в ряду эфиров  $\text{RO} - \text{CH}_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ . Среди производных диоксала (или «ацеталей»), обладающих мускариновым действием, соединения, в которых в качестве R присутствует  $\text{CH}_3$ , более активны, чем те, в которых R представляет собой H или  $\text{C}_2\text{H}_5$  [529]. Изомер [L(+)-цис] (11.37) в 6 раз активнее ацетилхолина [144].

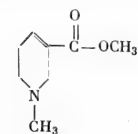


*Оптимальное положение атома кислорода в боковой цепи.* Активность эфира (11.36) составляет приблизительно от 1 до 10% активности ацетилхолина; этот эфир имеет более сильное мускариновое действие, чем никотиновое. Его активность снижается, если атом кислорода переместить из положения 3 в положение 2 или 4. Кетон (11.38) обладает слабой мускариновой активностью, а величина его никотиновой активности составляет на различных препаратах от 0,2 до 100% активности ацетилхолина. Активность этого вещества снижается, если карбонильную группу переместить из положения 4 в положение 3 или 2 [747]. Таким образом, активность этих соединений максимальна, если эфирный или карбонильный атом кислорода расположен в молекуле так же, как в ацетилхолине (11.23). Эти факты указывают на то, что эфирный атом кислорода играет столь же важную роль в мускариновом действии этих соединений, как атом кислорода карбонильной группы в никотиновом.

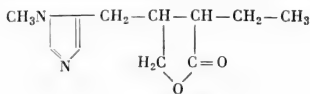
Метиловый эфир β-триметиламмонийпропионовой кислоты (11.39) можно рассматривать как ацетилхолин, в котором эфирный кислород и карбонильная группа поменялись местами. Это соединение является очень плохим субстратом для ацетилхолинэстеразы и не обладает способностью ингибировать этот фермент. Однако оно оказывает сильное мускариновое и умеренное никотиновое действие, а по своим фармакологическим свойствам отличается некоторым своеобразием [123]. Соединение (11.39) сходно с ареколином (11.40), который представляет собой алкалоид, выделяемый из орехов бетеля (см. выше) и используется в качестве глистогонного средства у собак.

Мускарон получается окислением вторичной спиртовой группы мускарина (11.25) в карбонильную. Он обнаруживает не только большую мускариновую активность, чем сам мускарин, но обладает и достаточно выраженными никотиновыми свойствами. Молекула мускарона содержит и эфирный, и карбонильный атомы кислорода, но расстояние между ними больше, чем в молекуле ацетилхолина. Однако вряд ли можно что-нибудь узнать о рецепторах ацетилхолина, сравнивая между собой мускарон и мускарин [146].

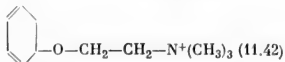




Ареколин  
(11.40)



Пилокарпин  
(11.41)



**Никотин и различные структурные особенности, обуславливающие никотиновую и мускариновую активность.** Работы по стимуляции ганглиев фениловыми эфирами холина (11.42) помогли выяснению структурных особенностей, необходимых по крайней мере для одного типа никотиновой активности [673]. Эфирный атом кислорода в молекуле ацетилхолина обычно несет на себе частичный отрицательный (полярный) заряд индукционного происхождения. Этот заряд может превратиться в частичный положительный заряд за счет мезомерного эффекта, который проявляется при активировании карбонильной группы находящейся поблизости от него группой противоположного заряда. Хэй обнаружил, что эфиры типа (11.42) наиболее эффективны при введении таких заместителей в бензольное кольцо, которые приводят к появлению на атоме кислорода частичного положительного заряда. Так, фениловый эфир холина более активен, чем ацетилхолин.

Атом азота в насыщенном (пирролидиновом) кольце никотина (4.17) играет ту же роль, что и катионная головка молекулы ацетилхолина, но активность никотина как стимулятора не повышается при кватернизации (гл. 4, разд. 5). Сильно поляризованная часть молекулы никотина находится в пирролидиновом кольце между атомом азота (несущим на себе большой дробный отрицательный заряд подобно любому атому азота, строящему у двойной связи) и связанными с ним атомами углерода, которые несут на себе более слабые дробные положительные заряды. Тот факт, что никотин в избытке оказывает антиацетилхолиновое (блокирующее) действие на ганглии, затрудняет исследование природы рецепторов, которое проводят с использованием никотина и его аналогов. Некоторые успехи [110] в этой области имеются.

Простые по структуре четвертичные соли оказывают на никотиновые рецепторы более сильное действие, чем на мускариновые. Особенно чувствительны к их действию ганглии. Из всех соединений ряда алкилтриметиламмония (11.34) максимальной активностью обладают соли *n*-пентилтриметиламмония, которые действуют на никотиновые рецепторы так же, как никотин, и в восемь раз сильнее ацетилхолина [1543]. Есть основания полагать, что для проявления никотиновой активности требуются менее жесткие условия, чем для мускариновой. Следует иметь в виду, что для никотинового действия необходимо наличие в молекуле сильно поляризованного участка.

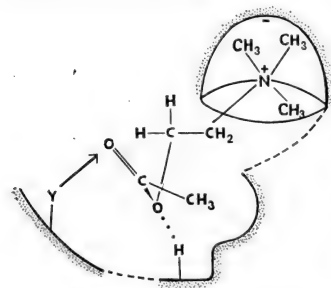
На фиг. 64 представлена обобщенная схема взаимодействия ацетилхолина с его рецепторами. На этом рисунке изображено: 1) углубление, обеспечивающее максимальное вандерваальсово и ионное взаимодействие с катионной головкой; 2) группа, обозначенная символом «N», которая образует водородную связь с эфирным атомом кислорода; предполагается, что эта связь играет важную роль в мускариновой активности; 3) группа, отмеченная символом «Y», обеспечивающая сильное дипольное взаимодействие с атомом кислорода (или углерода) карбонильной группы; предполагают, что эта связь играет важную роль в никотиновой активности. Природа рецептора анионной группы, т. е. той, которая взаимодействует с катионной головкой медиатора, неизвестна, но весьма возможно, что это поли-

фосфат [137]. По-видимому, расстояние между группами (2) и (3) равно приблизительно 3 Å, а между группами (1) и (3) равно 5—7 Å.

Дальнейшие исследования в этой области внесут, по-видимому, уже в ближайшие годы ясность в представленную картину.

**Антагонисты ацетилхолина.** Наиболее изученным соединением, обладающим антимускариновым действием, является атропин (4.14). О нем уже говорилось в гл. 4, разд. 5, где обсуждались попытки упростить его молекулу, не лишая ее при этом специфической антимускариновой активности и не сообщая ей нежелательных побочных эффектов. В этом разделе обсуждалась связь между структурой атропина и его упрощенных аналогов, с одной

стороны, и структурой мускаринового рецептора — с другой; однако окончательных выводов на этот счет сделать пока не удалось [73, 146]. Как обычно, у ингибиторов нет такого строгого соответствия между структурой и активностью, как у соответствующих стимуляторов. Хорошо известное положение о том, что стимулятор может быть превращен в антагонист путем увеличения его молекулярного веса, рассмотрено на примере лахезина (4.16), который обнаруживает определенное атропиноподобное действие. Более четким примером этого общего положения может служить ряд гомологов алкилтриметиламмония (11.34). Кинетические исследования показали, что скорость присоединения к рецептору у всех членов этого ряда одинакова,



Фиг. 64. Обобщенная схема взаимодействия ацетилхолина с рецептором [146].

а скорость их отщепления от рецептора падает с увеличением числа метиленовых групп (объяснение этого факта см. гл. 8, разд. 3, 6). Поэтому низшие члены ряда являются истинными мускариновыми стимуляторами; однако когда  $R = C_6H_{13}$ , наряду со стимулирующим обнаруживается также некоторое атропиноподобное блокирующее действие, когда же  $R = C_{12}H_{25}$ , отмечается только атропиноподобное действие [1101]. Появлением антагонистического действия у соединений с  $R > 5$  можно объяснить, почему во многих рядах соединений наличие боковой цепи из пяти атомов обеспечивает максимальную мускариновую (см. выше) активность.

Несколько больше сведений о стереохимии никотиновых рецепторов ацетилхолина в ганглиях дает исследование ганглиоблокирующих соединений. Было обнаружено [1105], что ганглиоблокирующая активность в ряду полиметиленибистриметиламмониевых соединений достигает максимума, когда между катионными головками имеется пять или шесть метиленовых групп. Было показано, что гексаметоний (4.21), оказывающий наиболее сильное блокирующее действие на ганглии, конкурирует с ацетилхолином за его рецепторы, не вызывая при этом никакой деполаризации [1102].

Основываясь на предположении Шюлера [1285] и используя метод конформационного анализа, Джилл [574] рассчитал вероятностную функцию расстояний между атомами для некоторых гомологических рядов ганглиоблокаторов. Были определены пределы расстояний между двумя атомами азота исходя из вероятностей всех разрешенных конформаций молекулы (заторможенных конформаций или *gauche*-конформаций). Расчет для почти жесткой молекулы высокоактивного ганглиоблокатора (*n*- $\omega$ -бис-триметиламмонийфенилэтана) показал, что расстояние между атомами азота может изменяться от 6,0 до 7,8 Å. Из этого был сделан вывод, что расстояние между

двумя аннионными связующими группами (одна из которых, по-видимому, находится на рецепторе, а другая — на расположенном поблизости участке неактивного белка) также составляет от 6,0 до 7,8 Å. При помощи этого же метода было показано, что в ряду полиметилена-*бис*-триметиламмониевых соединений только у тех гомологов, у которых катионные головки разделены пятью или шестью метиленовыми группами, расстояние между двумя атомами азота с большой вероятностью лежит в этом критическом интервале (табл. 48) [574].

Таблица 48  
Соотношение ганглиоблокирующей активности *бис*-триметиламмониевых солей и расстоянием между атомами азота в их молекулах [574]

Агент	n	A 1)	B 2)
$(H_3C)_3N^+-n-C_6H_4(CH_2)_n-N^+(CH_3)_3$	1	0	0
	2	100	100
	3	30	9
	4	18	2
$(H_3C)_3N^+(CH_2)_nN^+(CH_3)_3$	4	5	1
	5	100	63
	6	62	100
	7	25	12
	8	18	3

1) A—доля площади под кривой распределения вероятностей расстояний между 6 и 7,8 Å (площадь соответствующего участка под кривой функции распределения по расстояниям).

2) B—относительная молярная активность при блокировании передачи нервного импульса в верхнем шейном ганглии кошки [574].

Эти результаты позволили сделать предположение, что деполяризация постсинаптической мембраны ацетилхолином осуществляется посредством выпрямления складки в третичной структуре белка. Предполагается, что и *бис*-триметиламмониевые блокаторы присоединяются к анионному центру ацетилхолинового рецептора лишь одной катионной группой, а катионная группа, находящаяся на другом конце молекулы, взаимодействует с анионной группой, расположенной вне активного участка рецептора. Такое одновременное взаимодействие блокатора с двумя анионными группами, находящимися на расстоянии примерно 7 Å друг от друга, должно фиксировать белковую молекулу в невозбужденной конфигурации и таким образом предотвратить деполяризацию. По-видимому, подобным же образом действует и пентолиний (4.24), который теперь считается наиболее эффективным ганглиоблокатором из всех соединений ряда *бис*-четвертичных аммониевых соединений [574].

Лекарственное вещество, способное связываться одновременно с двумя центрами на рецепторе, должно отличаться чрезвычайно высоким сродством к нему по следующим двум причинам: а) если молекула диссоциирует, в результате чего один из ее концов удаляется от поверхности, то другой конец будет его удерживать на близком от нее расстоянии и тем самым способствовать рекомбинации; и б) молекулы лекарственного вещества будут за счет сил Ван-дер-Ваальса более прочно соединены с той частью биологической поверхности, которая лежит между двумя связывающими центрами. Многие соединения, эффективно блокирующие ганглии, например мекамил-

амин (4.9), содержат только одну основную группу, но у этих веществ совершенно иная структура.

Что касается антагонистов, действующих на нервно-мышечные соединения в системе произвольных мышц, то их можно разделить на два класса. Вещества, принадлежащие к первому классу, например тубокурарин, препятствуют деполяризации постсинаптических мембран ацетилхолином, но сами не оказывают на них никакого ацетилхолиноподобного действия. Они являются конкурентами ацетилхолина. Они не препятствуют синтезу, высвобождению и разрушению ацетилхолина, но не допускают взаимодействия его с рецептором. В результате этого происходит полное расслабление мышцы. Основываясь на том, что катионные головки молекул тубокурарина (4.19) и галламина (4.23), по-видимому, стерически не соответствуют рецептору ацетилхолина, Вазер предположил [1493], что молекулы этих соединений заслоняют углубление, в котором находится рецептор ацетилхолина. Согласно этому представлению, молекулы (4.19) и (4.23) связываются с двумя фиксирующими анионными группировками, которые расположены не на рецепторе, а входят в состав инертного белка вблизи рецептора.

Второй класс антагонистов, воздействующих на нервно-мышечное соединение, составляют вещества [например, декаметоний (4.20) и суксаметоний (4.22)], препятствующие деполяризации постсинаптических мембран ацетилхолином, но сами обладающие достаточно высокой ацетилхолиноподобной активностью для того, чтобы вызвать деполяризацию, прежде чем наступит блокада нервно-мышечного соединения. Триметиламмониевые группировки этих соединений не испытывают стерических затруднений, в связи с чем возможно присоединение хотя бы одного конца молекулы к анионной группе рецептора ацетилхолина.

Сродство этих бис-ониевых солей к трем основным типам рецепторов ацетилхолина отличается большой специфичностью. Все эти соли практически не действуют на постганглионарные рецепторы, однако их активность в отношении ганглиев и нервно-мышечных соединений может быть исключительно высокой при условии, что для каждого из этих двух видов рецепторов выбран надлежащий гомолог Декаметоний в дозах, в сто раз превышающих дозы, полностью блокирующие нервно-мышечное соединение, совершенно не действует на ганглии. Гексаметоний, наоборот, в стократной дозе по сравнению с дозой, блокирующей ганглии, не действует на нервно-мышечное соединение [1105, 1106]. Эта специфичность иллюстрируется с помощью табл. 49, в которой приведены относительные активности соединений-членов этого гомологического ряда.

Таблица 49

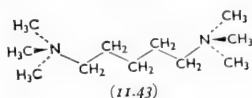
Относительные активности соединений с различным числом метиленовых групп при действии на разные типы синапсов

Вид холинэргического синапса	Число метиленовых групп								
	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Нерв—Нерв	0,01	0,08	1,0	0,1	0,02				
Нерв—произвольная мышца					0,07	0,7	1,0	0,55	0,2

Были предприняты попытки определить расстояния между рецепторами, взаимодействующими с декаметонием, с помощью метода Джилла (см. выше) (Джилл использовал этот метод для гексаметония). Оказалось, что это расстояние может варьировать [20, 172]. Рентгеноструктурный анализ кристаллов декаметония и его гомологов показал, что все члены этого ряда имеют *gosh*-конформацию, например (11.43) [285, 925]. Высказано предположение [20, 172], что, поскольку кристалл обладает плотной упаковкой (благодаря



сильным ван-дер-ваальсовым взаимодействиям между метиленовыми группами и благоприятному расположению атомов азота), молекулы этих лекарственных соединений будут сохранять свою форму и при адсорбции на рецепторах. Эти авторы полагают, что прочность соединения с рецептором может зависеть только от двух факторов: а) одной поинной связи и б) расстояния между первой и последней метильными группами (11.43), поскольку это расстояние определяет число возможных ван-дер-ваальсовых контактов.



Если все эти соображения верны, то роль второй аммониевой группы сводится к обеспечению растворимости, т. е. облегчению транспорта, и тогда эта группа может быть заменена гидроксильной или метоксильной группой; однако сведений о подобных соединениях в литературе нет. Более вероятно, что анионные группы с небольшими интервалами расположены на концевой пластинке мышцы и могут участвовать в образовании ионной связи с тем концом молекулы декаметония, который не замкнут на анионную группу рецептора ацетилхолина. Ван-дер-ваальсовы связи, которых, согласно Лонсдейлу [925], гексаметоний может образовать 6, а декаметоний 8, должны способствовать фиксации этих веществ на рецепторе.

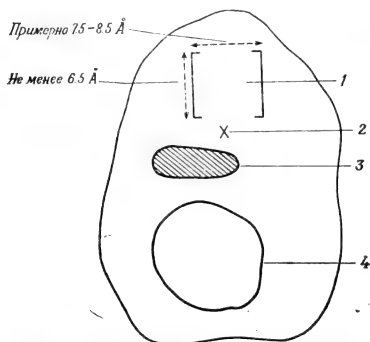
В ряду бис-ониевых соединений имеется второй максимум активности. — при наличии шестнадцати метиленовых групп, который менее четко выражен, чем максимум активности декаметония, соответствующий десяти метиленовым группам [114]. В одной из работ [819] было показано, что рецепторы, чувствительные к соединениям с десятью метиленовыми группами, появились на более позднем этапе эволюции, чем рецепторы, чувствительные к соединениям с шестнадцатью метиленовыми группами. В ряду суксаметония (4.22) резкий максимум активности приходится на соединение с двумя метиленовыми группами<sup>1</sup>.

## г. Морфин и другие анальгетики

Соединения с обезболивающим морфиноподобным действием почти всегда содержат четвертичный атом углерода (т. е. атом, у которого все заместители неводородные), причем пространственное расположение различных присоединенных к нему групп определяет анальгезирующую активность. Одна из таких групп — обычно бензольное кольцо (или тиофен, который изостеричен бензолу), а другая — это чаще всего третичный атом азота, присоединенный к цепи из двух атомов углерода [например, —CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)]. В молекулах анальгезирующих препаратов часто имеется электроноакцепторная группа (кето-группа, сложноэфирная группа или двойная связь) и нередко еще одно или даже два кольца (ароматическое или алициклическое). Четыре заместителя при четвертичном атоме углерода должны быть достаточно объемистыми, чтобы воспрепятствовать свободному вращению колец [71, 158]. Это ясно видно на структуре метадона (4.29), петидина (меперидина) (4.28), а также самого морфина (4.27), молекула которого расположена в двух плоскостях, образующих угол примерно 70°.

<sup>1</sup> Сведения по этому вопросу см. также: Михельсон М. Я. и Эйсмаль Э. В., Апетилолин (о молекулярном механизме действия), изд-во «Наука», Л., 1970. — *Прим. ред.*

Петидин (меперидин) (4.28) не имеет стереоизомеров и, возможно, по этой причине обладает весьма слабым обезболивающим действием. Вероятнее всего, конформация этой молекулы такова, что пиперидиновое кольцо имеет форму кресла, причем фенильная группа находится в экваториальном, а эфирная — в аксиальном положении [135].



Фиг. 65. Схематическое изображение рецептора анальгетиков.

1 — анионный центр; 2 — фокус анионного заряда; 3 — углубление; 4 — плоский участок.

Результаты исследований, посвященных стереохимии углеродного атома  $C_{(2)}$  пиперидинового кольца в молекуле морфина, показали, что это соединение принадлежит к D-ряду [358]. Наиболее активные из синтетических анальгезирующих препаратов, например метадон (4.29), оказались оптически активными и были также отнесены к D-ряду [134].

Существует предположение, что рецепторы анальгетиков имеют углубление (полость), в которую входит пиперидиновое кольцо морфина или петидина таким образом, чтобы катионный атом азота мог образовать ионную связь с анионной группой на краю этого углубления; в случае метадона в углубление, по-видимому, входит этильная

группа. Бензольное кольцо в молекулах обычных анальгетиков взаимодействует, вероятнее всего, за счет вандерваальсовых сил с плоским участком поверхности [134]. Схема гипотетического рецептора изображена на фиг. 65.

Обзор, посвященный связи между структурой и активностью анальгезирующих средств, принадлежит Бекетту и Кейси [136].

## 5. Заключение

Установление связи между структурой и действием биологически активных агентов и выяснение природы различных рецепторов требуют проведения дальнейших исследований в области стереоизомерии (см. [134, 605]).

## Химия поверхностных явлений. Изменения в мембранах под действием химических агентов

### Введение

Интенсивные цитологические исследования, проводившиеся в течение последнего десятилетия, показали, что сами клетки и большинство содержащихся в них органелл покрыты липопротеидными мембранами (гл. 1, разд. 3, б). В настоящее время широко распространено мнение, что жизнь возможна лишь в присутствии этих двуфазных (липофильных внутри и гидрофильных с обеих внешних поверхностей) мембран, которые обеспечивают разделение реагирующих веществ. Мембраны предопределяют также упорядоченность в протекании последовательностей реакций, упорядоченность, которая иначе была бы невозможна. Часто биологически важные поверхности в этих мембранах, а иногда и вне их, снабжены ферментами.

Ферменты и другие крупные белковые молекулы, либо в составе частиц, либо «растворенные» в основной фазе, являют собой границу раздела, на которой протекают разнообразные реакции. Сыворотка крови человека, в кубическом сантиметре которой поверхность белка имеет площадь  $100 \text{ м}^2$ , служит примером того, насколько громадной может быть площадь границы раздела в белковом «растворе».

Короткодействующие (вандерваальсовы) силы, описанные в гл. 5, разд. 1, обуславливают притяжение между всеми молекулами, находящимися на близком расстоянии друг от друга. Действие этих сил во всех жидкостях становится особенно очевидным на поверхности. В то время как на молекулы в массе жидкости эти силы действуют в равной степени во всех направлениях, молекулы, расположенные на границе раздела воздух — вода, испытывают ничтожное воздействие со стороны газовой фазы; практически они испытывают притяжение только со стороны жидкой фазы. Поэтому молекулы поверхностного слоя стремятся втянуться внутрь жидкой фазы, в результате чего поверхность приобретает конфигурацию с наименьшей возможной площадью (этим и объясняется сферическая форма пузырьков газа и капель жидкости). Это явление иллюстрируется с помощью фиг. 66. Между молекулами поверхностного слоя и молекулами внутри жидкости существует постоянный обмен.

Граница раздела жидкость — жидкость (т. е. граница между двумя несмешивающимися жидкостями) по своим свойствам подобна границе раздела воздух — вода, но, конечно, разница в силах притяжения, действующих на молекулы у границы раздела, здесь много меньше. Во многих случаях поверхностное натяжение у такой границы раздела примерно равно разности между величинами поверхностного натяжения каждой из жидкостей на ее границе с воздухом.

Амфифильные вещества стремятся концентрироваться на границах раздела. Молекулы таких веществ обычно состоят из длинной углеводородной цепи, присоединенной к короткой полярной «головке». В большинстве случаев эта головка обязана своей полярностью присутствию атомов кислорода или азота; за счет неподеленных пар электронов этих атомов образуются водородные связи с молекулами воды. В то же время углеводородный хвост может перейти в водную фазу, только разорвав водородные связи между молекулами воды, что энергетически невыгодно. Следовательно, амфифильные молекулы будут иметь наименьшую энергию, располагаясь на границе

раздела масло — вода; при этом гидрофильные группы могут оставаться в воде, а гидрофобные цепи проникают в масло, в котором они свободно объединяются с подобными себе цепями растворителя (фиг. 67). Очевидно, как только на границе раздела образуется мономолекулярный слой амфифильного вещества, его концентрирование в пограничном слое должно прекратиться. Однако молекулы такого монослоя постоянно обмениваются с другими молекулами амфифильного вещества, которые стремятся к границе раздела. Такая граница раздела имеет пониженное поверхностное натяжение и может легко деформироваться. На границах раздела могут накапливаться

как растворимые, так и нерастворимые вещества.

Уже давно признано, что такие особенности поверхностей, как упорядоченное расположение молекул и их высокая концентрация, служат причиной того, что по своим химическим свойствам молекулы поверхностного слоя отличаются от молекул, находящихся внутри фазы [7]. Так, например, молекулы в поверхностной пленке *транс*-изомера ненасыщенной алифатической кислоты могут быть так тесно спрессованы вместе, что ион перманганата из прилегающей водной фазы не достигает двойных связей. В этих условиях окисляться способен только *цис*-изомер, тогда как внутри фазы оба изомера окисляются с одинаковой скоростью [1196].

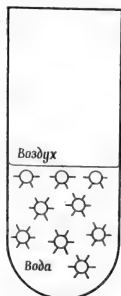
**Мицеллы.** Разбавленные водные растворы поверхностно-активных веществ имеют нормальные физические свойства, но при повышении концентрации до какой-то определенной величины, характерной для каждого вещества, наступает резкое изменение поверхностного натяжения, осмотического давления и электропроводности. Это изменение обусловлено выделением новой,

диспергированной фазы, образуемой агрегатами, именуемыми мицеллами. Обычно они бывают почти сферическими: углеводородные цепи находятся внутри сферы, а гидрофильные группы — на ее поверхности, соприкасаясь с растворителем — водой. Концентрация, при которой образуются мицеллы, называется критической мицеллярной концентрацией.

## 1. Поверхностные явления и биологическая активность

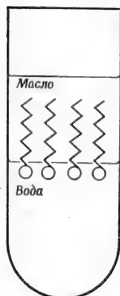
Много лет назад Ридел [1195] сделал ценное утверждение, что данные о физических и химических свойствах лекарственных и других агентов имели бы большее значение с точки зрения биологии, если бы их получали после адсорбции на моно(или олиго-)молекулярных пленках [1195]. С тех пор было проведено много интересных исследований, но имеющихся данных все же недостаточно, для того чтобы создать ясную картину интересующего нас явления. Медленное развитие в этой области отчасти обусловлено нехваткой работников с физической и биологической подготовкой, отчасти же тем, что некоторые фундаментальные законы химии поверхностных явлений изучены еще недостаточно.

Одна область химии поверхностных явлений представляется особенно многообещающей для выяснения механизмов избирательной токсичности;



Фиг. 66. Схема, иллюстрирующая причину возникновения поверхностного натяжения на границе раздела воздух — вода.

Черточки изображают силы, действующие на молекулы со стороны других молекул.



Фиг. 67. Ориентация молекул амфифильного вещества на границе раздела масло — вода.

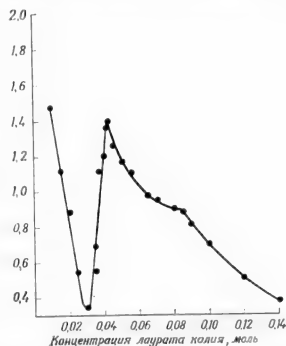
мы имеем в виду изучение равновесия между мономерами и мицеллами в водном растворе. Так, например, в концентрированных растворах ионы соединений с молекулярным весом выше 150 обычно обратимо полимеризуются с образованием мицелл. Исследование влияния заместителей на критическую мицеллярную концентрацию (и соответственно на биологическую активность) является плодотворной областью, ожидающей дальнейшего изучения.

В подобных исследованиях весьма полезными оказались новые прецизионные интерферометры. При использовании мыл для растворения в воде фенолов (с целью использования их в качестве дезинфицирующих средств) образуются смешанные мицеллы мыла и фенола. Продолжая работу, начатую Агаром и Александером [16], Берри и сотр. [164] показали, что при изменении соотношения концентраций мыла и фенола наблюдаются три зоны активности, как это показано на фиг. 68 [164].

Первая зона соответствует концентрации лаурата калия ниже  $0,03\text{ M}$ ; максимальное бактерицидное действие наблюдается при концентрации  $0,03\text{ M}$ , т. е. при концентрации, идентичной критической мицеллярной концентрации

Фиг. 68. Бактерицидное действие 4-бензилфенола ( $0,0016\text{ M}$ ) в водном растворе лаурата калия (в зависимости от концентрации последнего) на *E. coli* ( $2 \cdot 10^9$  клеток на 1 мл) при  $20^\circ$ .

По оси ординат — логарифм среднего времени выживания в минутах.



этого мыла. Объясняется это тем, что бактерицидное действие в этой первой зоне обусловлено комбинированной атакой фенола (главным образом) и мыла на плазматическую мембрану (см. также ниже, разд. 2). Вторая зона (до концентрации  $0,045\text{ M}$ ) — зона сильного ослабления бактерицидного действия. Объясняется это тем, что молекулы фенола включаются в мицеллы, количество которых увеличивается, и, следовательно, все меньшая доля фенола способна оказывать дезинфицирующее действие. Если ввести еще больше мыла, то появляется третья зона (зона активной дезинфекции). Это новое повышение активности главным образом обусловлено токсичностью самого мыла. Для всех фенолов, обычно используемых в качестве дезинфектантов, в том числе для *n*-хлор-*m*-ксиленола, отмечены подобные зоны.

Подобным же образом мыла усиливают антигельминтное действие фенолов, причем и в этом случае также важно избегать избытка мыла, поскольку образующиеся мицеллы могут удерживать почти весь фенол и тем самым препятствовать его воздействию на червей [58]. Ниже критической мицеллярной концентрации мыла антигельминтное действие фенола усиливается. Само мыло в организм червей не проникает.

Образованием смешанных мицелл удается объяснить некоторые случаи терапевтической интерференции, т. е. ослабления биологического действия активного вещества другим, инертным (гл. 3, разд. 6 и гл. 7, разд. 1, а). Еще один аспект этого же явления — стремление веществ с алифатическими боковыми цепями занимать внутренние полости «растворенного» альбумина в кровотоке. В качестве примера приведем пенициллин К, содержащий гептиловую боковую цепь, который именно таким путем быстро удаляется из крови, тогда как обычный пенициллин не элиминируется так быстро. Молекулы меньшего размера без боковых цепей могут занимать полости

альбумина при условии, что они обладают высоким коэффициентом распределения в системе масло/вода [711] (гл. 2, разд. 3).

Некоторые виды бактерий нуждаются для своего роста в следовых количествах олеиновой кислоты, однако рост их подавляется, если олеиновая кислота присутствует в более высокой концентрации. В то же время в присутствии сывороточного альбумина они оказываются нечувствительными к концентрациям, в сотни раз превышающим те, которые оказывают бактериостатическое действие. Это происходит потому, что каждая молекула альбумина способна прочно связать 9 молекул этой жирной кислоты, и концентрация свободной кислоты более не будет являться даже гемолитической. Смешанные мицеллы остаются в равновесии со свободной олеиновой кислотой, количество которой достаточно для поддержания жизнедеятельности бактерий [410]. Девис предположил, что  $\omega$ -аминогруппы многочисленных остатков лизина, присутствующих в альбумине, притягивают (электростатически) карбоксильные группы жирных кислот, тогда как длинные липофильные цепи этих кислот располагаются параллельно липофильным боковым цепям многочисленных остатков лейцина.

Разрушающее действие фенола на кожу человека ослабляется введением липофильных (алкил или хлор) групп в молекулу, что было впервые показано Бехгольдом и Эрлихом [133]. К сожалению, те фенолы, которые наименее вредны для кожи и потому наиболее подходят для использования, в большей степени инактивируются сывороткой (поскольку они имеют высокие коэффициенты распределения в системе масло/вода и занимают полости в альбумине). Для быстрой дезинфекции неповрежденной кожи и слизистых оболочек широко применяется *n*-хлор-*m*-ксиленол.

Было показано, что ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  различно связываются фосфолипидами в мицеллах, диспергированных в воде, но не в ориентированных монослоях [4].

**Цитоплазматическая мембрана.** Эта ламеллярная (и частично мицеллярная) мозаика липидов и белков образует тонкую полупроницаемую мембрану вокруг каждой клетки, а также вокруг каждой клеточной органеллы (гл. 4, разд. 3, б). Искусственные мембраны (некоторые из них электровозбудимые, подобно мембранам нервов и мышц) упомянуты в гл. 4, разд. 3. Проницаемость природных мембран обсуждается в гл. 2, разд. 2.

Различные амины могут так модифицировать цитоплазматические мембраны млекопитающих, что прекращается пиноцитоз: это является просто следствием адсорбции катиона с последующим изменением локального заряда (гл. 8, разд. 3, д).

## 2. Повреждение мембран биологически активными агентами

Известно, что некоторые агенты обязаны своей биологической активностью способности изменять биологически важные структуры. Фенолы, четвертичные амины с длинными цепями, например (12.1), и полипептидные антибиотики обладают свойством расщеплять бактериальные стенки [561]. Опыты, проведенные на протопластах в гипертонических средах, указывают, что эти три класса веществ способны расщеплять цитоплазматические мембраны, а действие на клеточные стенки является вторичным. Разрушительное действие этих веществ было изучено также путем измерения времени, в течение которого вытесняется содержимое клеток. Это удобно сделать, построив график зависимости оптической плотности при 260 мкм от времени, как это сделано на фиг. 69 для действия гексилрезорцина (12.2) на *E. coli*. В данном случае действие препарата почти полностью завершается через 2 мин. Сходные результаты были получены с четвертичными аминами, такими, как ЦТАБ (12.1) [1252]. Эти разрушения, по-видимому, обусловлены обволакиванием пор,



антипараллельную складчатую структуру, причем липофильные боковые цепи располагаются с одной стороны, а остаток гидрофильного орнитина — с противоположной [4276]; этим объясняются его амфифильные свойства.

Хотя алкилфенолы, четвертичные амины и полипептидные антибиотики являются поверхностно-активными агентами, самого по себе этого свойства еще недостаточно для реализации биологического действия. Обнаружено, что соединения с одинаковой поверхностной активностью, но несущие разные по знаку заряды, т. е. катионные, анионные и нейтральные соединения, представляют собой соответственно сильные антибактериальные агенты, слабые агенты и инертные вещества. Таким образом, действие на бактерии нельзя объяснить высокой поверхностной активностью, однако именно это свойство, по-видимому, обуславливает концентрирование веществ на поверхности бактерий. Повреждение бактерий, вероятно, происходит вследствие разрыхления структуры клеточной мембраны.

В свое время было высказано предположение [432], что алкалоиды и местноанестезирующие средства действуют, снижая поверхностное натяжение; это предположение было основано на измерениях, проведенных на границе раздела воздух — вода. Впоследствии результаты исследования серии из 37 таких веществ показали, что подобная корреляция отсутствует [928]. Вообще говоря, граница раздела воздух — вода является совсем неподходящей моделью для изучения биологического действия. Обсуждение избирательной адсорбции ионов и нейтральных молекул на биологических поверхностях см. в гл. 8, разд. 2.

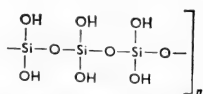
Повреждение мембран, о котором идет речь в данном разделе, состоит по существу в разрыве пленок смешанного состава; это явление подробно изучено на модельных системах. Если адсорбированное поверхностно-активное вещество просто образует новый монослой поверх пленки, то происходит лишь слипание отдельных районов пленки друг с другом (агглютинация). Прорыв пленки может произойти а) если ее заряд нейтрализуется (например, для катионной пленки с помощью аниона); б) если адсорбированный агент проникает в пленку вследствие того, что он более поверхностно активен, чем компоненты пленки, или же потому что он способен образовывать более прочные связи с одним из компонентов пленки и таким образом замещает другой компонент. По этому второму механизму сапонин и фосфолипиды гемолизуют эритроциты [1290]. Иногда пленка в результате такого проникновения в нее постороннего агента может стать даже прочнее, и ее разрыва не произойдет, но при этом нормальная биологическая функция пленки будет утрачена. Теперь мы проанализируем некоторые другие примеры повреждения мембран.

Рассмотрим, в частности, как действуют два широко применяемых фунгицида, которые представляют собой катионные поверхностно-активные агенты: додин (*n*-додецилгуанидин), который был введен в практику в 1956 г., и глиодин (2-гептадецил-2-имидазолин), открытый Уэллменом и МакКалланом [1514] в 1946 г. У некоторых грибов они вызывают разрыв плазматической мембраны, у других они резко повышают ее проницаемость, так что проникают при этом в клетку и разрушают внутриклеточную мембранную структуру [1352].

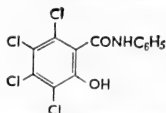
Кремнезем ( $\text{SiO}_2$ ) — причина профессионального заболевания горняков, силикоза легких. Токсическим началом, по-видимому, служит полимерная кремневая кислота (12.3), образующаяся при длительном воздействии воды на кремнезем. Это слабая кислота, действующая избирательно на один вид клеток — макрофаги. Фагосомы макрофагов захватывают различные нерастворимые частицы, однако только кремневая кислота разрушает липопротеидную мембрану (фагосом); в результате макрофаги разрушаются, и в цитоплазму выходят гидролитические лизосомные ферменты. По-видимому, кремневая кислота действует как донор при образовании водородных связей,



за счет которых создаются комплексы с фосфатно-эфирными группами фосфолипидов (связь  $P = O \dots H - O - Si$ ). Полимер N-окиси поливинилпиридина — антидот, который, подобно фосфолипидам, служит рецептором при образовании водородных связей, уменьшает токсическое действие кремнезема на макрофаги *in vitro*, а также подавляет силикоз у животных [1036].



Поликремневая кислота  
(12.3)



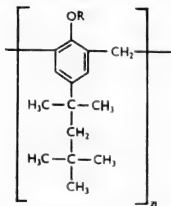
Тетрахлорсалициланид  
(12.4)

Хлоргексидин (1,6-бис-N-п-хлорфенилдигуанидогексан), широко применяемый в качестве местного антисептического средства, вызывает высвобождение содержимого клеток *Escherichia coli*, если эти бактерии поместить в водный раствор этого вещества (1 : 10 000) на 5 мин при 20°, причем большинство клеток погибает [1249]. Тетрахлорсалициланид (12.4) и гексахлорофан вызывают высвобождение из бактерий вещества, поглощающего при 260 мкм (показатель нарушения плазматической мембраны); бактерии при этом погибают. И хлоргексидин, и гексахлорофан служат жирорастворимыми наружными дезинфицирующими средствами [789, 1571].

В экспериментах со стрептомицином, меченным  $C^{14}$ , было показано, что этот антибиотик первоначально накапливается в бактериальной клеточной стенке. Вследствие такого локального концентрирования плазматическая мембрана набухает и становится пористой [66]. Затем стрептомицин легко проникает в клетку (ср. с поведением долина выше); конечным местом его действия являются рибосомы (гл. 1, разд. 4, б).

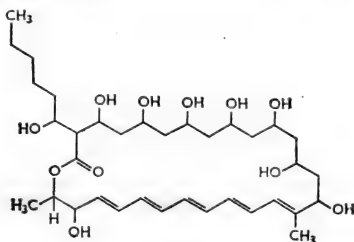
Полимер, известный фармакологам-экспериментаторам как «48/80», избирательно разрывает мембрану тучных клеток млекопитающих, вызывая высвобождение больших количеств гистамина [1065]. Этот полимер является тримером N-метилгемоанизиламина и формальдегида. Он неактивен в гипотонических растворах, и, возможно, в основе его действия лежит повышение проницаемости мембраны для ионов.

К числу избирательно действующих полимеров относятся также «Тритоны», непонные эмульгаторы с общей формулой (12.5) [355]. При введении в кровотоки мышам, зараженным туберкулезом, эти полиоксэтиленовые эфиры накапливаются в моноцитах и так изменяют поверхность микобактерий туберкулеза в каждом моноците, что клетка быстро убивает их — чудо, которое обычно редко происходит в природе [949]. К сожалению, «Тритоны» слишком токсичны для млекопитающих, для того чтобы их можно было исполь-



где R:  $-(CH_2CH_2O)_{16-19}CH_2CH_2OH$   
(12.5)

зовать в клинике; однако в этой работе заложена превосходная идея, которая в дальнейшем может оказаться плодотворной. К полиеновым противогрибковым агентам относятся макролидные антибиотики, содержащие большое количество  $\beta$ -гидроксильных групп и от 4 до 7 сопряженных двойных связей в лактонном кольце. Сопряженная структура не содержит заместителей и находится в полностью *транс*-конфигурации. Лактонное кольцо имеет относительно плоскую липофильную область и менее жесткую гидрофильную область (12.6). У разных членов этого ряда имеются различные заместители — остатки аминсахаров, карбокси- и эпокси-группы, алифатические и ароматические боковые цепи. Полиеновые антибиотики действуют на большинство грибов, простейших, плоских червей, улиток и высших водорослей. На бактерии они почти не действуют, но высшие растения и животные в небольшой степени чувствительны к ним.



Филипин  
(12.6)

Эти полиены повреждают грибы, присоединяясь к эргостерину плазматических мембран. Организм *Mycoplasma laidlawii* нечувствителен к филиппину в отсутствие стерина, тогда как в их присутствии филиппин вызывает его лизис [1503]. Если полиеновые антибиотики ввести под монослой смешанных липидов, находящийся в поверхностной впадине, то полиены включаются в пленку и увеличивают ее площадь. Переориентация стеринного компонента, вызванная взаимодействием с полиеном, по-видимому, создает течь в пленке [418]. Ни мембраны митохондрий и ядер, ни клеточная стенка не затрагиваются полиенами [826].

Всевозможные нарушения плазматической мембраны могут быть вызваны разными полиенами от филиппина, который производит сильные повреждения и разрывы, до N-ацетилкандинина, вызывающего только утечку сорбозы и ионов калия, и N-сукцинилперимицина, который высвобождает только калий [203]. В общем низкомолекулярные полиены вызывают наибольшие повреждения [317].

Выше приведена формула филиппина (12.6) [297]. Формула нистатина определена Бёрчем с др. [174] и Икедой и др. [741], а формула амфотерацина В — Коупом и др. [352]. Последние два антибиотика применяют в медицине перорально для подавления в кишечнике грибковой инфекции, которая может быть столь неприятным последствием терапии тетрациклинами. Вводимый внутривенно амфотерацин может лечить редкие, но пока неизбежные системные грибковые инфекции.

Подробно физические и химические явления на границе двух фаз рассмотрены в книге Девиса и Ридела [408].

### Введение

В молекулах большинства органических веществ электроны с противоположно направленными магнитными моментами объединены в пары, и потому внешнее магнитное поле на них не действует. Немаловажный биологический интерес также представляют вещества, принадлежащие к классу соединений, известных под названием свободных радикалов. Под *свободным радикалом* подразумевают молекулу, содержащую *неспаренный электрон*. Большинство таких молекул имеет очень короткое время жизни, например  $10^{-3}$  сек., и оканчивает свое существование, димеризуясь или объединяясь с другими свободными радикалами, или же участвует в самоподдерживающейся цепной реакции. Свободных радикалов, достаточно стабильных при комнатной температуре, известно сравнительно мало. Существуют также «ион-радикалы»: помимо атома, несущего неспаренный электрон, у них имеется также атом с положительным или отрицательным зарядом. Чаще всего свободные радикалы возникают при окислении, восстановлении или при воздействии излучений.

До 1954 г. часто можно было слышать утверждение, что свободные радикалы играют важную роль в реакциях биологического окисления — восстановления (например, [1995, 1497]). Эта гипотеза основывалась только на косвенных доказательствах, вытекающих из модельных опытов с такими акцепторами электронов, как рибофлавин, пиоцианин и активные хиноны.

В 1954 г. свободные радикалы и в самом деле были обнаружены в живых клетках растений и животных с помощью нового высокочувствительного метода — так называемого метода ЭПР (электронного парамагнитного резонанса) <sup>1</sup> [346, 347]. С помощью этого метода удается обнаруживать радикалы с временем жизни до  $10^{-7}$  сек; результат регистрируется в виде очень характерного спектра. В среднем определяется около  $10^{-8}$  моль свободных радикалов на 1 г ткани. Выход радикалов увеличивается, в частности, при прорастании семян, при вступлении дрожжей в метаболическую фазу и при облучении листьев светом. Было найдено, что содержание свободных радикалов в хлорофилл-липопротеидном комплексе хлоропластов значительно возрастает на свету. Этот комплекс медленно передает электроны диффундирующему компоненту, который вследствие этого превращается в свободный радикал. В ферментах, например в алкогольдегидрогеназе и цитохромредуктазе, обнаруживаются свободные радикалы, появляющиеся только в процессе активной дегидрогенизации. Местонахождение свободных радикалов в животных клетках чаще всего ограничено митохондриальными ферментами, катализирующими реакции окисления и восстановления. Ловушкой короткоживущих свободных радикалов в митохондриях служит витамин Е.

Свободные радикалы в клетке обычно являются короткоживущими, хотя меланин, по-видимому, всегда существует в виде свободного радикала, как

<sup>1</sup> Явление ЭПР было открыто в СССР Е. К. Завойским [1602], а метод ЭПР разработали в основном американские приборостроители. Резонанс возникает при взаимодействии магнитного момента неспаренного электрона с магнитным полем прибора. ЭПР-спектрометр регистрирует зависимость поглощения энергии СВЧ-излучения фиксированной частоты от напряженности магнитного поля.

это вообще свойственно полимерам, содержащим конденсированные кольца. Вероятно, он был отобран в процессе эволюции в качестве ловушки для электронов, освобождающихся при действии света на кожу.

Напомним, что тройной комплекс Михаэлиса, состоящий из D-аланина, оксидазы D-аминокислот и кофермента этой оксидазы (ФАД), представляет собой устойчивый свободный радикал, что было доказано с помощью ЭПР (гл. 6, введение).

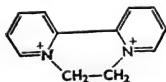
За счет эндогенного метаболизма или под действием излучения из воды образуется небольшое количество радикалов  $\text{HO}\cdot$  и  $\text{HO}_2\cdot$ , обладающих высокой реакционной способностью. Одна из научных школ видит в этих радикалах и в накоплении вызываемых ими нарушений естественную химическую основу мутирования, старения и некоторых форм рака [649]. В связи с этим при использовании лекарственных препаратов, образующих свободные радикалы *in vivo*, необходимо соблюдать крайнюю осторожность. В гл. 7, разд. 2, 6, изложена гипотеза канцерогенеза путем переноса электронов полициклическими углеводородами. Однако, согласно этой гипотезе, опухоли могут вызываться любыми свободными радикалами — весьма распространенное представление, которое, однако, пока не получило подтверждения. Иногда обнаруживаются изменения в сигналах ЭПР в процессе как спонтанного, так и химически индуцированного канцерогенеза, но значение этого факта до сих пор не ясно [1040].

Подробные сведения об ЭПР и химии свободных радикалов содержится у Ингрэма [749] и Уоллинга [1482].

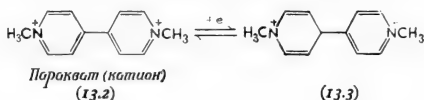
## 1. Свободные радикалы и избирательно токсичные агенты

**Гербициды.** За последние годы в практике появилось целое семейство ценных гербицидов, которые, как выяснилось, действуют, превращаясь в устойчивые свободные радикалы. Первый из них — это дикват (13.1) 9,10-дигидро-8a,10a-диазонийфенантроновый катион (используемый в виде дибромиды). Было обнаружено, что до тех пор, пока два пиридиновых кольца некопланарны, какое-либо биологическое действие отсутствует. Например, в биологически инертном диметильном двучетвертичном производном 2,2'-бипиридила два дополнительных водородных атома в метильной группе обеспечивают стерическое препятствие, достаточное для того, чтобы предотвратить плоскую конформацию молекулы. Отсутствие копланарности доказывалось также ультрафиолетовым спектром этого диметильного аналога диквата (длинноволновый пик оказывается смещенным на 38 мкм). В гл. 7 приводятся другие примеры утраты биологической активности в присутствии метильных групп.

Эти ограничения заставили от производных 2,2'-бипиридила обратиться к производным 4,4'-бипиридила, для которых вышеуказанные стерические ограничения не имеют места. Действительно, многочисленные четвертичные производные 4,4'-бипиридила оказываются активными; наиболее сильнодействующим из них служит паракват (13.2), катион 1,1'-диметил-4,4'-бипиридила (используемый в виде дихлорида). Это вещество долгое время применяли для иных целей, а именно в качестве индикатора низких окислительно-восстановительных потенциалов (определение см. гл. 9, разд. 4). Этот



Дикват (катион)  
(13.1)



бесцветный индикатор, известный под названием «метилвиологен», образует устойчивый свободный радикал (13.3) фиолетового цвета, когда потенциал падает до  $-446 \text{ мв}$  [993].

Вскоре выяснилось, что 3,3'-бипиридиловый аналог параквата неактивен в качестве гербицида; следовательно, копланарность не является достаточным условием. Оказалось, что необходима, кроме того, такая структура, которая допускала бы образование и стабилизацию свободного радикала при восстановлении. Для образования радикалов требуется такое расположение связей, какое имеется в 2,2'- и 4,4'- (но не в 3,3'-) бипиридах; для стабилизации их требуется копланарность молекулы, так чтобы, как в (13.3), кольца могли обмениваться неспаренным электроном (обозначен жирной точкой) и положительным зарядом, т. е. стабилизация осуществлялась бы путем резонанса между одинаковыми каноническими формами [221].

Вскоре было обнаружено, что те четвертичные бипириды, которые дают стабильную фиолетовую окраску с цинком и уксусной кислотой, чаще всего обладают гербицидной активностью. Как показывает этот тест, любые заместители, которые за счет стерических или электронных влияний ингибируют образование свободных радикалов, подобных (13.3), устраняют и гербицидное действие. Однако, если значения  $E'_0$  слишком малы, вещества в растении будут находиться в равновесии с незначительным количеством свободнорадикальной формы. Несомненно, чем больше отрицательное значение  $E'_0$ , тем меньше повреждающее действие эти вещества оказывают на растения; если пересчитать результаты, относя их к количеству образуемых веществом свободных радикалов, то все члены этого ряда оказываются одинаково токсичными [721].

Эти вещества не повреждают растения в темноте, но быстро убивают их на свету. Для гербицидной активности необходим также хлорофилл (этиолированные растения повреждаются слабо), кроме того, гербицидное действие не проявляется и в отсутствие кислорода. Обычно после применения параквата растения гибнут быстро, но это не означает, что их гибель вызвана непосредственным воздействием свободных радикалов. Легко показать как *in vitro*, так и (спектроскопически) в хлоропластах, что окисление этих радикалов фиолетового цвета на воздухе вызывает каталитическое образование перекиси водорода. Вполне вероятно, что конечной фазой токсического действия на растения является образование нестабильных перекисных свободных радикалов ( $\text{RO}_2\cdot$ ) с высокой реакционной способностью под действием кислорода воздуха [281, 984]. Интересно отметить, что  $\gamma$ -лучи разрушают ткани животных, также образуя перекисные свободные радикалы.

Эти гербициды весьма дороги, однако они совершенно незаменимы при подготовке почвы для выращивания пшеницы, ячменя, кукурузы, фасоли, посеянных в борозды без предварительной вспашки. Это очень важно для районов, в которых почва подвержена эрозии. Паракват и дикват быстро инактивируются в почве, так что они воздействуют только на наземные части растений, на которые они попадают при опрыскивании. Дикват наиболее эффективен против широколистных растений, а паракват — против однолетних сорняков. Их можно использовать также для десикации ботвы таких культур, как картофель, свекла и др., с целью облегчения сбора урожая.

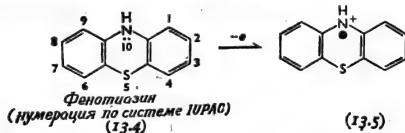
**Четыреххлористый углерод.** Это вещество было введено в медицинскую практику Холлом в 1921 г. в качестве противоглистного препарата. Уже

в 1925 г. было выявлено его некротическое действие на печень и почки, и Холл попытался заменить его труднее всасываемым тетрахлорэтиленом. Из-за своей дешевизны четыреххлористый углерод до сих пор применяется для лечения глистных инвазий у крупного рогатого скота, овец и домашней птицы, но с большей осторожностью, чем раньше. И в настоящее время нередки случаи отравления этим веществом, которое широко используется в качестве растворителя, а также в огнетушителях.

Было высказано предположение [1179, 1340], что токсичность  $CCl_4$  для млекопитающих обусловлена его гомолитическим расщеплением до свободного радикала  $CCl_3\cdot$ . Хотя при этом не представлено никаких ЭПР-спектроскопических данных, отмечено, что даже в низких концентрациях четыреххлористый углерод вызывает перекисное окисление жиров в промытых суспензиях «микросом» при  $37^\circ$ ; известно, что для инициации и поддержания перекисного окисления липидов необходимы свободные радикалы. При поражении печени четыреххлористым углеродом основные изменения локализируются в эндоплазматической сети и в меньшей степени в митохондриях<sup>1</sup>. Агенты, которые оказывают защитное действие на печень при отравлении четыреххлористым углеродом *in vivo*, предотвращают также перекисное окисление липидов (например, прометазин, нуперкан и бромид цетильтриметиламмония).

**Другие вещества.** Методом ЭПР (в высокоскоростном жидкостном точном аппарате) было четко показано, что некоторые гормоны образуют свободные радикалы при обработке восстанавливающими агентами, такими, как дитионит натрия ( $Na_2S_2O_4$ ) и хлорид титана, или окислителями, например феррицианидом и перманганатом калия. Эти результаты были получены для катехоламиновых гормонов, адренохрома, иодтиранинов, серотонина, индолилуксусной кислоты, эстрогенов (как стероидных, так и нестероидных) и инсулина. Пока нет никаких данных, которые свидетельствовали бы о том, что эти гормоны образуют свободные радикалы в живых клетках, поскольку быстропроточную технику еще не удалось применить к живым образцам [199]. Все фенолы, в том числе салициловая кислота, образуют свободные радикалы при окислении хлорным железом или перманганатом калия. Это еще не означает, что любое биологическое действие фенолов осуществляется через посредство свободных радикалов; однако сам факт, что свободные радикалы возникают в тех пределах значений окислительно-восстановительного потенциала, которые характерны для живой клетки, определяет необходимость изучения этих радикалов наравне с другими формами фенолов, используемых в качестве лекарственных средств.

Фенотиазин (13.4) и его производные при окислении легко образуют устойчивые свободные радикалы. Незамещенный фенотиазин часто применяется как пероральный препарат при глистной инвазии у овец (по-видимому, он вызывает мышечный паралич червей). Крэг и др. [364] отметили, что 3,7-дизамещенные производные неактивны; в связи с этим было высказано предположение, что молекула, для того чтобы приобрести активность, должна быть окислена в положении 3 (по-видимому, уже в организме пара-



<sup>1</sup> Четыреххлористый углерод является мощным лабильзатором мембраны лизосом. Не исключено, что первым и определяющим шагом в его действии является высвобождение лизосомных гидролитических ферментов.— *Прим. ред.*

зита) [364]. Эти же авторы обнаружили, что фенотиазин может быть окислен до очень стабильных (семихиноновых) свободных радикалов, например (13.5), но их  $E_0'$  составляет 550—850, что значительно превышает значения, обнаруженные для живых клеток.

Некоторые N-замещенные феназины применяют в качестве транквилизаторов в психиатрии, например хлорпромазин (2-хлор-10-диметиламино-*n*-пропилфенотиазин), прометазин (10,2'-диметиламиноизопропилфенотиазин) и этпропазин, в котором вместо диметиламиногруппы (как в прометазине) присутствует диэтиламиногруппа. Оказалось, что эти вещества легко окисляются до свободных радикалов темно-красного цвета, ЭПР-спектры которых обнаруживают сверхтонкую структуру устойчивых радикалов.

Наиболее подходящими окислительными агентами являются ионы трехвалентного железа, ионы кобальта и марганца [201]. Психотропное средство имипрамин (2.22) может, хотя и с некоторым трудом, окисляться до устойчивого свободного радикала голубого цвета. В настоящее время доказательства существования корреляции между биологическим действием этих препаратов и их способностью образовывать свободные радикалы отсутствуют. Поэтому до сих пор не было предложено удовлетворительного объяснения механизма их действия [200]. У больных, которым назначают фенотиазиновые транквилизаторы, в моче обнаруживаются окрашенные свободные радикалы, отличающиеся по спектру от указанных выше продуктов окисления [1142].

Тетрациклины легко образуют свободные радикалы, например в 1 н. растворе едкого натра (количество свободных радикалов максимально через 2 час, при 25° С) [847, 867]; доказано, что в бактериальных клетках могут образовываться свободные радикалы стрептомицина и рибофлавина [1524].

Сообщалось, что антиоксиданты (ловушки радикалов) могут служить защитным средством при действии канцерогенов [1302]; как это ни парадоксально, но было показано, что некоторые устойчивые свободные радикалы обладают противоопухолевой активностью [840].

В предыдущих главах мы упоминали некоторые другие примеры образования радикалов, в частности использование цистеамина для защиты от лучевого поражения (гл. 9, разд. 6) и антагонизм кобальта в отношении токсического действия комплексов железо — оксин на бактерии (гл. 9, разд. 7, а). Окислительно-восстановительные потенциалы веществ, которые при окислении или восстановлении проходят стадию образования более или менее устойчивых свободных радикалов, обсуждались в гл. 3, разд. 6; гл. 7, разд. 2 и гл. 8, разд. 3, б. Противогрибковое действие замещенных *n*-фенилэндаминов также коррелирует с их восстановительными потенциалами [1058]. Катионы металлов первых переходных рядов, столь активные биологически, дают характерные сигналы ЭПР, исходя из которых можно сделать вывод о степени их окисления в живых тканях.

Эту небольшую главу, посвященную биологии свободных радикалов, следует завершить мыслью о том, что в наших руках имеется большое количество умозрительных построений. Однако только в случае с пиридиновыми гербицидами бесспорно продемонстрировано образование свободных радикалов, определяющее механизм действия избирательно токсичного агента. Подробнее о свободных радикалах в биологических системах см. [70, 190]. Сведения о цепных реакциях см. в книге [389].

## Биологическая активность, не связанная со структурой. Принцип Фергюсона

*Введение*

В последних девяти главах книги описаны многочисленные примеры, свидетельствующие о том, что даже незначительные вариации структуры соединений в большинстве случаев вызывают заметные изменения их биологической активности. Известен, однако, один класс соединений, для которых подобной зависимости не существует. Это так называемые «биологические депрессанты», которые используются как снотворные и наркотические средства. В более высоких концентрациях они находят применение в качестве летучих инсектицидов, в частности фумигантов (эффективных средств защиты зерна при хранении). В умеренных концентрациях они подавляют митоз (см. ниже, разд. 2). В эту главу ради удобства включены также сведения о порошкообразных веществах, обладающих сорбтивными свойствами (разд. 3), хотя действие этих веществ принципом Фергюсона не определяется.

*1. Биологические депрессанты (снотворные и наркотические средства, летучие инсектициды)*

Депрессанты представляют собой неионизованные соединения. Это могут быть углеводороды (алифатические или ароматические), хлорированные углеводороды, спирты, эфиры, кетоны, слабые кислоты, слабые основания или алифатические нитросоединения. Что касается депрессантов, которые представляют собой альдегиды, сложные эфиры, сильные кислоты и сильные основания, то характер их действия, по-видимому, иной, нежели у вышеперечисленных классов соединений, а барбитураты, вообще нельзя безоговорочно отнести к группе депрессантов (см. ниже). Для объяснения действия депрессантов были выдвинуты различные гипотезы, которые будут в сжатом виде изложены ниже.

Липоидная гипотеза наркоза, предложенная Овертоном [1083] и независимо от него Мейером [991], основывалась на следующих трех принципах:

а) все растворимые в липидах инертные вещества обладают свойствами депрессантов;

б) эффект от действия депрессанта сильнее всего выражен и быстрее всего реализуется в клетках, отличающихся особенно высоким содержанием липидов;

в) эффективность депрессанта независимо от его принадлежности к тому или иному классу соединений увеличивается по мере возрастания коэффициента распределения в системе липид/вода. Иначе говоря, эффективность депрессанта тем выше, чем больше значение его коэффициента распределения.

Если рассматривать уже не клетку, а организм интактного животного, то придется добавить следующее: 1) если вещество настолько хорошо растворяется в жирах, что оказывается практически нерастворимым в воде, то свойствами депрессанта оно обладать не может, так как будет необратимо накапливаться в первом же из возможных липофильных «мест потерь»; 2) в медицинской практике депрессанты в основном используются в качестве снотворных средств и средств для наркоза. В малых дозах они вызывают сон, в боль-



пних дозах — потерю чувствительности, в еще больших — мышечную релаксацию. Введение в практику наркоза мышечных релаксантов, в частности суксаметония (4.22), дало возможность значительно снизить дозы обезболивающих средств по сравнению с теми, которые были приняты до 1940 г. Наиболее общеупотребительными наркотическими средствами в высокоразвитых странах стали: закись азота, галотан и циклопропан, т. е. вещества которые еще 20 лет назад считались бы для этих целей недостаточно действенными (так как они не обладают свойствами мышечных релаксантов). Тот факт, что на нервные клетки депрессанты оказывают влияние в гораздо меньших дозах, чем те, в которых они действуют на мышечные клетки, согласуется с пунктом «б» липонной теории в том виде, как она здесь изложена, при условии, что содержание липидов в нервных клетках выше, чем в мышечных. В общем так оно и есть: нервная ткань, в частности ткань спинного и головного мозга, богата липидами, которые входят в состав миелиновых оболочек, окружающих плазматическую мембрану самих нервных клеток. Снижение возбудимости (вплоть до ее исчезновения) плазматической мембраны служит мерилом активности наркотического средства. Место действия наркотических средств еще точно не выяснено. Наиболее вероятным в настоящее время представляется предположение, что они действуют на полисинаптические участки в центральной нервной системе, а не на всю поверхность плазматической мембраны [152, 1403].

Первоначально для определения коэффициентов распределения применяли преимущественно оливковое масло; попытки использовать для этой цели смеси липидов, экстрагированные из клеточных тканей, не дали положительных результатов. Впоследствии Мейер и Хэмми [1992] предложили для этой цели олеиловый спирт, который, как они полагали, служит более адекватной моделью липидов клеточных мембран по сравнению с нелетучими маслами, которые представляют собой сложные эфиры. (Общие сведения о коэффициентах распределения см. в гл. 2, разд. 2 и в приложении 3.)

В табл. 50 выборочно представлены результаты экспериментов по установлению зависимости между значениями коэффициентов распределения и подавлением клеточной активности. Числа в последней графе таблицы представляют собой произведение величин, приведенных в первых двух графах; в сущности говоря, эти цифры характеризуют концентрации депрессанта в липидах клетки. Значения, полученные при использовании олеилового спирта в качестве модели клеточных липидов, примерно равны 0,03. Старые же данные (с оливковым маслом в качестве модели) характеризуются значительно большей вариабельностью.

Таблица 50

**Коэффициенты распределения в системе липид/вода для некоторых депрессантов [1992]**

Соединение	Коэффициент распределения в системе олеиловый спирт/вода	Концентрация, вызывающая обезбоживание головастиков, моль/л (вода)	Рассчитанная концентрация депрессанта, моль/л (клеточные липиды)
Этанол	0,10	0,33	0,033
n-Бутанол	0,65	0,03	0,020
Валерямид	0,30	0,07	0,021
Бензамид	2,50	0,013	0,033
Салициламид	5,90	0,0033	0,021
Фенобарбитал	5,90	0,008	0,048
o-Нитроанилин	14,0	0,0025	0,035
Тимол	950,0	$4,7 \cdot 10^{-5}$	0,045

Первое возражение против гипотезы Овертона — Мейера заключалось в следующем: корреляция, предусмотренная пунктом «в», не является линейной: так, например, коэффициент распределения для изобутилового спирта в 180 раз выше соответствующего коэффициента для этилового спирта, тогда как его активность в качестве депрессанта превышает активность этилового спирта всего в 6 раз. Кроме того, выбор воды в качестве нелипидной фазы исключает возможность получения количественных характеристик для веществ, которые вводятся не в водных растворах, а, скажем, с воздухом (средства для наркоза, инсектициды). И все же гипотеза Овертона — Мейера полностью отброшена никогда не была. Она нашла свое место в рамках других, более удовлетворительных, теорий<sup>1</sup>.

Вскоре после появления липоидной гипотезы Траубе [1431] выдвинул иное физико-химическое объяснение действия депрессантов. Он утверждал, что активность депрессанта тем выше, чем больше он снижает поверхностное натяжение на границе между водой и другой фазой, например воздухом или маслом. Это предположение оказалось справедливым в пределах нескольких гомологических рядов соединений, однако оно не является общей закономерностью. В частности, такие общеизвестные депрессанты, как хлористый этил и хлороформ, не обладают способностью заметно снижать поверхностное натяжение на границе вода/воздух или вода/масло. В то же время известны многочисленные поверхностно-активные вещества (например, детергенты), не являющиеся депрессантами.

Задача по созданию удовлетворительной физико-химической гипотезы, дающей возможность объяснить действие депрессантов, была разрешена Фергюсоном [510, 511]. Он указал на то, что при устойчивом состоянии наркоза концентрация лекарственного вещества во внешней среде находится в равновесии с концентрацией его в фазе, в которой непосредственно реализуется биологическое действие. А к подобным системам применимы простые законы термодинамики<sup>2</sup>. В состоянии равновесия термодинамический потенциал депрессанта будет одинаковым во всех фазах; это справедливо также для непосредственно связанной с ним функции — термодинамической активности. Иначе говоря, если термодинамическая активность измеряется в одной из фаз (во внешней среде), то можно быть уверенным, что и в биофазе она должна быть такой же, пусть даже нам неизвестны ни местонахождение, ни химическая природа биофазы. «Биофазой» называют ту область, в которой реализуется биологическое действие — она может находиться вне клетки или представлять собой одну из органелл клетки.

Если термодинамическую активность чистого вещества (т. е. вещества, находящегося под давлением только собственных паров) принять за единицу, то термодинамическая активность паров этого вещества в воздухе при любой концентрации равна относительной насыщенности его паров (небольшие погрешности, связанные с отклонением от законов для идеального газа,

<sup>1</sup> Критический анализ теорий Овертона — Мейера, Траубе и других, здесь не упомянутых авторов, содержится в монографии Н. В. Лазарева, «Наркотики», Л., 1940. — Прим. ред.

<sup>2</sup> Равновесные концентрации, характеризующие то или иное биологическое действие веществ, рассматривались и до Фергюсона. В частности, авторы различных физико-химических теорий наркотического действия веществ при построении зависимостей, лежащих в основе этих теорий, исходили именно из наркотических концентраций, находящихся в равновесии во внешней среде по отношению к биофазе. Идею Фергюсона о термодинамическом рассмотрении действия чужеродных веществ на организм нельзя считать новой концепцией механизма действия депрессантов. Но эта идея позволила объединить ряд физико-химических теорий наркоза и описать их фазово-распределительную сущность на основе строгих физических представлений. Следствием такого описания является выяснение того факта, что физико-химические свойства, связанные с распределительными отношениями, не определяют непосредственно механизма наркотического действия, но определяют транспортировку веществ к месту действия и их накопление в нем. — Прим. ред.

можно во внимание не принимать). Отсюда:

$$\text{Активность} = \frac{P_i}{P_s},$$

где  $P_i$  — парциальное давление паров вещества в воздухе, а  $P_s$  — давление насыщенных паров этого вещества.

В первом приближении можно считать, что термодинамическая активность в водном растворе равна относительной насыщенности раствора, при условии, что вещество не обладает слишком высокой растворимостью в воде.

Таким образом, для характеристики депрессантов важнейшим показателем является *степень насыщенности* этими веществами среды (воздух или вода), в которой они действуют, а вовсе не истинные их концентрации. Принцип Фергюсона выдержал проверку на целом ряде биологических объектов [270, 510, 511, 513, 564].

Было обнаружено, что многие агенты, обладающие различной структурой, оказывают одинаковое биологическое действие при одинаковой (приблизительно) степени насыщенности. Так, например, 0,2%-ный водный раствор вещества, предельная растворимость которого в воде составляет 1%, обнаруживает такое же угнетающее действие, как 0,02%-ный водный раствор другого вещества, предельная растворимость которого в воде составляет только 0,1%. Совершенно очевидно, что любые изменения структуры, вызывающие снижение растворимости вещества в воде по сравнению с исходным веществом, будут способствовать повышению его активности в качестве депрессанта; это означает, что новое вещество окажется активным в более низких концентрациях, чем исходное. В гомологических рядах растворимость в воде по мере возрастания молекулярного веса падает. При этом быстро уменьшаются и концентрации веществ, необходимые для того, чтобы получить определенный биологический эффект. Однако в гомологических рядах депрессантов значения термодинамической активности, необходимые для получения определенного действия, постепенно растут до некоторого максимального значения, характерного для гомолога, который проявляет активность только в насыщенном растворе (т. е. в растворе, который находится в равновесии с нерастворенной частью вещества и характеризуется значением термодинамической активности, равным 1). Само собой разумеется, что следующий vyšший в ряду гомолог будет обладать лишь ничтожной биологической активностью или будет вовсе неактивен [510, 511]. Таким образом, растительные масла и другие алифатические соединения, содержащие длинную цепь углеродных атомов, должны быть биологически неактивны. Имея все это в виду, стоит повторно перечитать гл. 7, разд. 1, а.

Действие структурно неспецифичных веществ состоит, по-видимому, в том, что они накапливаются в некоторых жизненно важных частях клетки, нарушая таким образом нормальное течение метаболических процессов. Иначе говоря, они действуют *просто как чужеродные вещества*. Само собой разумеется, что способность накапливаться в клетках обусловлена наличием соответствующих физических свойств, которые в свою очередь определяются химической структурой этих соединений. Отсюда следует, что нет особых оснований выделять эти вещества как действующие по «физическому механизму» и противопоставлять их структурно специфичным агентам. Физические свойства, определяющие биологическую активность, зависят исключительно от относительного числа гидрофильных и гидрофобных группировок. Следовательно, подходящие комбинации можно получать путем подбора соответствующих соединений в многочисленных гомологических рядах самых разнообразных классов веществ.

Иллюстрацией к принципу Фергюсона могут служить данные о влиянии различных углеводородов, хлорированных парафинов, нитропроизводных углеводородов и слабых оснований на хлебного червя (см. табл. 51).

Все эти вещества применяются в виде паров, смешанных с воздухом. Сравнение их действия в эквимолекулярных концентрациях (графа вторая) показывает, что активности этих соединений могут различаться в 4000 раз. Значительно более однородные результаты получаются при сравнении величин *относительной насыщенности*, т. е. вычисленной наименьшей доли давления насыщенных паров данного вещества, при которой наступает гибель червя. Эти цифры имеют более или менее постоянные значения (около 0,5), причем предельные расхождения между отдельными результатами значительно меньше (они отличаются друг от друга не более чем в 9 раз). Таким образом, летальный исход обеспечивается, когда воздух примерно наполовину насыщен парами вещества. Что касается соединений, к которым принцип Фергюсона неприменим (например, синильная кислота, сероуглерод, аммиак и сильные органические основания), то для них были получены значительно более низкие значения (например, 0,0008 для аммиака).

Таблица 51

Характеристика относительной насыщенности при токсических концентрациях различных веществ в опытах на хлебном черве (личинка жука *Agriotes*) [510]

Соединение	Токсическая концентрация (летальный исход наступает через 1000 мин при 15°), 10 <sup>-6</sup> моль/л	$P_s$ (упругость паров при 15°), мм рт. ст.	$P_1/P_s$ (относительная насыщенность при токсических концентрациях)
Монометиламин	3,7	0,22	0,3
Диметиламин	6,6	0,28	0,4
Пиридин	76	10,4	0,1
Бромформ	94	3,2	0,5
Тетрахлорэтан	141	4,2	0,6
Хлорбензол	200	6,8	0,5
Толуол	420	17,0	0,4
Нитрометан	710	23,0	0,6
Бензол	775	58,0	0,2
Гептан	800	27,0	0,5
Хлороформ	1 040	128	0,2
Трихлорэтилен	1 200	52	0,4
Четыреххлористый углерод	1 600	73	0,4
Гексан	3 000	96	0,6
Дихлорэтилен	3 100	230	0,2
Пентан	16 600	320	0,9

Если бы цифра 0,5 представляла собой константу, характеризующую действие структурно неспецифичных веществ в любых видах клеток, то не было бы оснований ожидать, что их токсическое действие окажется избирательным. В действительности, однако, относительная насыщенность варьирует от 0,01 до 1,0 для различных клеток. Так, например, состояние наркоза у мышей и головастики, а также задержка в развитии яиц морского ежа соответствует приблизительно значению 0,03. Более высокое значение (0,5), соответствующее приблизительно полунасыщенному раствору, было получено для минимальных концентраций анилина, фенолов, алифатических спиртов и кетонов, необходимых для уничтожения брюшнотифозной палочки в водных растворах [510].

Большое значение приобретает принцип Фергюсона при исследовании токсических агентов; пользуясь им, легко определить, является ли какое-нибудь новое биологически активное вещество структурно специфичным (т. е. определяется ли его специфичность структурой) или нет. Для того чтобы ответить на этот вопрос, нужно прежде всего определить значение коэффициента Фергюсона для данной изучаемой биологической реакции.

используя для этой цели примерно дюжину химических агентов из числа включенных в табл. 51. Если в результате эксперимента для испытуемого вещества будет получено такое же значение, как и для модельных химических соединений, то можно считать весьма вероятным, что оно является структурно неспецифичным соединением. Если это так, то не приходится ожидать от подобных соединений каких-либо других особых биологических свойств, и нет необходимости исследовать, как будут меняться эти свойства в зависимости от незначительных изменений (например, от введения метильной группы в различные положения) в структуре их молекул.

Таблица 52

## Подавление подвижности головастика [222]

Соединение	Минимальная концентрация депрессанта, $\text{моль/л}$	Минимальная активность депрессанта ( $\times 10^3$ )
Этанол	0,41	2,8
Бутанол	0,02	2,1
Октанол	0,0001	2,8
Ацетон	0,28	3,0
Хлороформ	0,001	1,9
Эфир	0,03	4,0

Другой практический вывод из принципа Фергюсона состоит в том, что при исследовании нового биологически активного вещества очень выгодно внести такие изменения в структуру его молекулы, чтобы оно стало менее растворимым в воде, разумеется, в известных пределах (см. выше).

Принцип Фергюсона первоначально был использован для объяснения действия инсектицидов; позднее, однако, он оказался полезным и при исследовании действия снотворных средств на животных и наркотических препаратов на человека <sup>1</sup>. В головном мозгу и других частях центральной нервной системы происходит быстрое накопление наркотических агентов за счет других тканей (гл. 2, разд. 2).

В табл. 52 приведены данные, характеризующие типическое действие шести депрессантов на различных позвоночных. Если сравнивать между собой действие этих депрессантов, исходя из молярных концентраций, то получится, что они отличаются друг от друга по эффективности в 400 раз. Если же в основу расчетов положить значения термодинамической активности, то оказывается, что эти же депрессанты по эффективности действия отличаются друг от друга всего в два раза <sup>2</sup>.

Многие химически инертные вещества оказываются биологическими депрессантами, по активности не уступающими любому из перечисленных в табл. 51 и 52, при условии, что для сравнительной оценки используются данные о термодинамической активности. Свойства азота как наркотического средства могут послужить хорошей иллюстрацией к только что сказанному. Водолаз, работающий на глубине 60 м, подвергается давлению, в семь раз превосходящему то, к которому он привык на суше. Если в этих условиях

<sup>1</sup> При алкоголизме в печени накапливается НАД·Н, вследствие чего 5-окситриптами в процессе метаболизма подвергается уже не окислительным, а восстановительным реакциям. Было обнаружено, что существует определенная корреляция между симптомами опьянения и этим сдвигом от окислительного типа метаболизма 5-окситриптамина к восстановительному [414, 509].

<sup>2</sup> О приложении идеи Фергюсона к анализу токсического действия веществ на млекопитающих см. работы В. А. Филова: Труды научной сессии, посвященной итогам работы Института гигиены труда и профзаболеваний за 1958 г., Л., 1959, 223—231; Биофизика, 1962, т. 7, № 1, 73—79. О практическом приложении этой идеи в области исследования действия вредных газов на человека см. Лазарев Н. В., Филлов В. А., Гигиена труда, 1964, № 4, 19—24.— *Прим. ред.*

для дыхания используется обыкновенный воздух, то в крови растворяется избыточное количество азота. При этом нарушается ясность мышления и снижается способность принимать разумные решения. Для того чтобы предупредить этот «азотный наркоз», который представляет серьезную опасность для водолазов, вместо воздуха применяют смесь гелия с кислородом (4 : 1). При этом сознание остается ясным даже на глубине 300 м. Из всех инертных газов гелий самый легкий, наркотический же эффект увеличивается по мере возрастания молекулярного веса. Так, аргон (мол. вес 40) обладает более выраженными наркотическими свойствами, чем азот (мол. вес 28).

Было обнаружено, что ксенон (мол. вес 131) при атмосферном давлении вызывает временную потерю рефлексов у мышей [886]. Эти данные рассматриваются как достаточное основание для использования ксенона в качестве эффективного наркотического средства для человека. Расчет показал, что в этом опыте значение термодинамической активности ксенона составляло всего 0,01, и, следовательно, эффективность его очень велика. Ксенон начали применять во время операций в клинике при университете Айовы [374]; его использовали в смеси с кислородом (20%) без предварительной подготовки, т. е. без барбитуратов или мышечных релаксантов. Потеря сознания наступала сразу, расслабление мышц было достаточно полным, сознание восстанавливалось быстро. Наркоз оказался таким же глубоким, как при использовании этилена, но несколько менее глубоким, чем эфирный. Этот наркоз был применен при орхидэктомии и перевязке фаллопиевых труб, и ксенон был признан вполне удовлетворительным наркотическим средством. Эти результаты позволили сделать некоторые очень важные обобщения: *наркоз, вызванный действием инертных веществ, наступает, как только определенная часть общего объема некоторой фазы нервной клетки окажется занятой чужеродными молекулами* (ксенон по своей исключительно малой физической и химической реакционной способности как раз и является характерным примером такого инертного соединения).

Открытым остается вопрос о природе упомянутой фазы. Многие исследователи предполагают, что это липопротеидная мембраца. В качестве простейшей модели нервной клетки часто используют амёбу, простейшее одноклеточное. Было показано [682], что амёба наркотизируется, если ее поместить в разбавленный раствор депрессанта, однако инъекции депрессанта не оказывали наркотического действия. После удаления депрессанта путем диффузии чувствительность амёб полностью восстанавливалась.

Автор настоящей книги считает, что потеря чувствительности происходит в данном случае следующим образом: накопление депрессанта в липопротеидной мембране простых клеток должно вызывать набухание. В связи с этим может произойти чисто механическое разобщение ферментов, обеспечивающих нормальную последовательность реакций. Кроме того, в результате набухания могут измениться размеры пор, через которые проникают катионы натрия. Этот процесс можно уподобить набуханию, вызванному нанесением пластификатора на поверхность, покрытую нитроцеллюлозным лаком (набухание исчезает после того, как пластификатор испаряется).

В связи с этим следует упомянуть об исследованиях Гоулдейкра [585], в которых и было обнаружено, что под действием наркотических средств у амёб значительно увеличивается поверхность плазматической мембраны, в результате чего она вспучивается и отделяется от цитоплазмы. В этом состоянии ответная реакция на тактильное раздражение появляется только в том случае, если мембрану удастся вдавить в цитоплазму (содержащую гранулы) через промежуточный гиалиновый слой в клетке. Гоулдейкр высказал предположение, что мембрана функционирует как фермент, который действует на субстрат, находящийся в цитоплазме и неспособный диффундировать оттуда, и что подобный же механизм может существовать также в нервных клетках млекопитающих.

Депрессант, по-видимому, нарушает цепь реакций, протекающих с выделением энергии. В свое время предполагали, что депрессанты действуют, обволакивая в клетке центры окисления, совершенно так же, как тонкий слой жира предохраняет железо от ржавчины [1486]. Позднее было высказано более вероятное предположение [1468], согласно которому депрессант вызывает нарушение пространственных взаимоотношений в последовательно расположенных ферментах дыхательной цепи. Была далее обнаружена известная специфичность в ингибировании ферментов депрессантами, причем характер этой специфичности заставляет полагать, что это нарушение в дыхательной цепи имеет место на участке между флавопротеидом и цитохромным компонентом. Данные о действии депрессантов на митохондрии подтверждают эту гипотезу, так как дыхательная цепь в митохондриях поражается как раз на этом участке.

Амилобарбитал (амитал) в разбавленном растворе (0,002 *M*) полностью и специфично ингибирует процесс реокисления НАД·Н в НАД в этой цепи (гл. 1, разд. 3) [485]. Тем не менее концентрации депрессанта, необходимые для подавления дыхания в тканях *in vitro*, всегда значительно больше, чем те, которые обычно применяют для наркоза при хирургических операциях в клинике. Таким образом, вызванное депрессантом угнетение клеточного дыхания является скорее следствием уменьшения нервной активности, чем его причиной [273, 947].

В самом начале 60-х гг. была выдвинута еще одна гипотеза, согласно которой действие депрессантов начинается с того, что они перераспределяют молекулы воды, окружающие нервные волокна [1108]. Методом рентгеновской кристаллографии было показано, что лед имеет весьма рыхлую структуру: каждый атом кислорода служит центром тетраэдра, в вершинах которого на расстоянии 2,76 Å от центра располагаются 4 других атома О. Каждый атом О соединен с двумя атомами водорода ковалентными связями и с двумя другими атомами водорода — водородными связями. Очевидно, что обилие водородных связей и придает кристаллической решетке льда свойственную ей рыхлую структуру. В среднем длина связи О — Н составляет 1,0 Å.

Исследованию структуры жидкой воды были посвящены многочисленные работы; в этом вопросе, однако, полной ясности до сих пор нет. При всей беспорядочности структуры жидкой воды в ней существуют определенные повторяющиеся агрегаты молекул. Частично в жидкой воде сохраняются элементы структуры льда с характерной для него системой водородных связей [162], а в остальном она представляет собой, по-видимому, более плотное вещество с неупорядоченными связями. Обе формы находятся в состоянии подвижного равновесия и потому неотделимы друг от друга [534]. Предполагается, что подобные системы состоят из 25—91 молекул льда (при температуре ниже 70°), находящихся в равновесии со свободными молекулами воды, число которых примерно в три раза меньше [1044].

Молекулы углеводородов (например, пропана), а также благородных газов (например, ксенона), образуют стойкие гидраты клатратной структуры, в которых эти молекулы удерживаются энти в «клетке», состоящей из молекул воды, связанных друг с другом водородными связями.

Так, пропангидрат ( $C_3H_8 + 17H_2O$ ) существует как таковой при температуре до 6°, при условии, что он находится под давлением не менее 6 атм [1360]. Пропангидрат применяется в одном из промышленных методов получения питьевой воды из морской. Константы скорости реакции разрыва водородных связей между третичным амином и водой (например,  $R_3NHOH$ ) могут быть использованы в качестве достаточно чувствительного теста, позволяющего выяснить, вызывает ли та или иная неполярная группа образование особых структур в воде.  $R$  — это углеводородная группа, в которой углеродная цепь систематически увеличивается перед каждым последующим изме-

рением. Результаты этих опытов не обнаружили появления в воде характерных для льда структур под влиянием гидрофобных групп [618].

В соответствии с предложенным Полингом механизмом наркоза [1108] считается, что наркотическое средство образует, подобно пропану, сетчатые, клатратные структуры льда. Поскольку такие образования не могут быть устойчивыми при температуре 37°, было сделано дальнейшее допущение, что эти структуры стабилизированы зарядами, которые несут боковые цепи белковых молекул. Такие клатратные структуры Полинг назвал «гидратными микрокристаллами». Благодаря образованию этих микрокристаллов, согласно Полингу, проводимость в нейронной сети падает, и, соответственно, уменьшается энергия электрических осцилляций. Миллер в своей гипотезе, сходной с только что описанной [1004], не считает необходимым постулировать присутствие в организме гидратов, но допускает, что под влиянием молекул наркотического препарата может происходить такое перераспределение соседних с ним молекул воды, которое приводит к созданию структуры льда. Вследствие такой упорядоченной структуры липидные мембраны становятся более жесткими или же существующие в них для прохождения ионов натрия поры закупориваются и проводимость в головном мозгу снижается. Следует отметить, что эта гипотеза имеет сходство с описанными выше в одном весьма существенном пункте: она связывает действие депрессанта с процессом обратимой дезорганизации. Однако гидратная гипотеза при разделении веществ на «наркотические» и «ненаркотические» использует критерии чисто физические. Между тем, если исходить из этих критериев, то, как будет показано ниже, получаются данные, не согласующиеся с результатами биологических экспериментов.

Одно из ограничений, о которых идет речь, состоит в том, что полость внутри структурных образований льда соответствует только молекулам, имеющим приблизительно сферическую форму. Так, пропан образует стойкие гидраты (см. выше), тогда как гидрат изобутана уже может существовать только при более высоком давлении. Что касается гидрата бутана, то о нем мало что известно. Пентан гидрата не образует. Однако, по мере того как способность образовывать гидраты в ряду этих соединений падает, их наркотическое действие усиливается. Еще большие затруднения возникают, если попытаться применить гидратную гипотезу к органическим фторсодержащим соединениям. Эти соединения характеризуются особенно слабыми межмолекулярными взаимодействиями вследствие своей ничтожной способности образовывать вандерваальсовы связи (гл. 5, разд. 1). Эти свойства проявляются как в пониженной способности к ассоциации с неполярными веществами, так и (в еще большей степени) в полной неспособности вступать во взаимодействие с сильно поляризованными соединениями типа воды. Для сравнительной оценки способности различных наркотических средств к образованию гидратов составляли графики зависимости эффективности наркотического средства от величин, обратных тому значению давления при 0°, при котором происходит диссоциация гидратов. Сравнение различных соединений в «эквивалентных» концентрациях позволило обнаружить, что фторсодержащие соединения гидратированы в значительно меньшей степени, чем другие наркотики [1003].

Та же группа исследователей предложила еще более универсальную методику для проверки гидратной гипотезы, основанную на построении графиков зависимости эффективности наркотиков от их произведения растворимости в воде на теплоту растворения (которая может считаться мерой способности молекул вещества вызывать структурирование соседних с ними молекул воды). И в этом случае при сравнении депрессантов в эквивалентных дозах была обнаружена исключительно слабая способность фторсодержащих соединений индуцировать изменение структуры в соседних молекулах воды. В то же время на графике зависимости активности наркотика



от его растворимости в жирах фторсодержащие соединения заняли среди других наркотиков то положение, которое соответствовало их свойствам [1003].

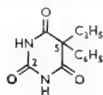
С помощью фторсодержащих соединений удалось успешно разрешить вопрос об адекватности той или иной из основных гипотез о механизме действия наркотиков (подробнее о критике «ледяной гипотезы» см. [940]). Стало ясно, что критической для действия наркотиков фазой является не вода и не пограничная поверхность белок — вода, а какое-то другое вещество с выраженным липидным характером. Нельзя, однако, не отметить, что сторонники «ледяных гипотез» привлекли внимание биологов к вопросам, связанным с уникальной структурой воды, которая, надо полагать, играет существенную роль в действии более полярных лекарственных соединений.

Нужно, кстати, упомянуть и о том, что принцип Фергюсона, вообще говоря, применим и к структурно специфичным агентам, однако последние, как известно, эффективны уже при очень низких значениях термодинамической активности, так что практическое значение принципа Фергюсона для этой группы соединений ничтожно.

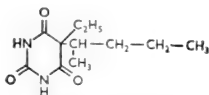
Следует отметить, что депрессанты, предназначенные для применения в клинике, должны быть либо достаточно летучими, либо достаточно хорошо растворимыми в воде, т. е. обладать способностью удаляться из той биофазы, в которой действуют. Такие образом, по мере того как концентрация депрессанта в окружающей биофазу водной среде падает, в биофазе восстанавливается нормальное состояние.

**Барбитураты.** Барбитураты, например фенобарбитал (14.1), вошли в медицинскую практику как снотворные средства после того, как успешное использование в медицине простых по структуре алифатических амидов стимулировало исследование аналогов этих амидов. С течением времени терапевтический индекс, характеризующий барбитураты, был значительно улучшен, так как удалось ввести в положение 5 такую боковую цепь, которая через несколько часов разрушается с помощью функционирующих в организме механизмов детоксикации (гл. 2, разд. 3). Барбитал (веронал) выделяется из организма в неизменном виде, а пентобарбитал (нембутал) (14.2) в организме легко окисляется. Такие детали структуры, как двойная связь, слабо разветвленная боковая цепь или замещение атома кислорода в положении 2 серой, способствуют разрушению молекулы препарата в организме. Коль скоро распад в организме обеспечен, можно уверенно применять более высокие дозы и таким образом вызывать более глубокий сон и даже легкий наркоз при хирургических операциях. Общепринятое подразделение барбитуратов на группы в зависимости от продолжительности их действия (с длительным, средним, коротким и ультракоротким сроками действия) создавалось вовсе без учета данных, полученных в клинике [687]. При действии пентобарбитала и хиналбарбитала быстро наступает глубокий сон, который длится 8 час. По истечении этого времени сознание быстро и полностью восстанавливается. При действии фенобарбитала снотворный эффект обнаруживается позднее. Существовавшее ранее представление о фенобарбитале как о снотворном с более длительным периодом действия оказалось неверным.

В результате других изменений в структуре барбитуровой кислоты, таких, как удлинение боковой цепи (сверх шести углеродных атомов) и метилирование по обоим атомам азота гетероцикла, образуются соединения, вызывающие судороги. Бемеград (мегимид,  $\beta$ ,  $\beta$ -метилэтилглутаримид) (14.3) обладает выраженным антагонистическим действием по отношению к барбитуратам и оказывается очень полезным в качестве противоядия при отравлениях барбитуратами. Бемеград имеет некоторое структурное сходство с барбитуратами. Однако его аналептическое действие по отношению к барбитуратам не является специфичным. Выше уже обсуждался вопрос о том, что с увеличением размера



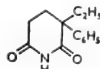
*Фенобарбитал*  
(14.1)



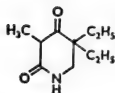
*Пентобарбитал*  
(14.2)



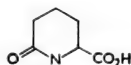
*Бемегрид*  
(14.3)



*Глутетимид*  
(14.4)



*Метиприлон*  
(14.5)

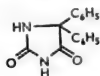


*Пиперидон-6-карбоновая  
кислота*  
(14.6)

алкильных групп в молекулах глутаримидов эти последние приобретают снотворное действие [887, 1315]. Для барбитуратов же характерно как раз обратное.

Глутетимид (14.4) (дорилен) и метиприлон (14.5) (нолудар) представляют собой снотворные, которые по своему действию почти неотличимы от лучших представителей барбитуратов.

Известно, что глутаминовая кислота и ее производные принимают участие в метаболических процессах, протекающих в центральной нервной системе. В связи с этим некоторые фармакологи склонны считать и барбитураты, и такие снотворные, как производные пиперидона (14.4) и (14.5), аналогами метаболитов<sup>1</sup>. Другие исследователи полагают, что барбитураты нельзя относить к классу индифферентных депрессантов, так как обычное для них значение  $pK_a = 8$  допускает некоторую кислотную ионизацию этих соединений. По этому вопросу см. табл. 31 и соответствующее место в тексте. В общем можно сказать, что до настоящего времени не было достаточно серьезных оснований для исключения барбитуратов и родственных им соединений из общего класса депрессантов, с которыми они сходны почти по всем своим физическим характеристикам (см., например, табл. 50).



*Фенитоин*  
(14.7)

<sup>1</sup> Вопрос о строении самого метаболита еще не разрешен. Возможно, что ключом к решению этого вопроса послужит пиперидон-6-карбоновая кислота (14.6), которая представляет собой легко образующийся ангидрид  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты. Это вещество широко распространено в растениях. Здесь уместно указать, что поглощение пириимидинового производного (оротовой кислоты) бактериями ингибируется амилбарбиталом в концентрации  $10^{-3}$  M [957].

Фенобарбитал (14.1) обладает не только снотворным, но и очень эффективным противозепилептическим действием. Существенным элементом структуры, обуславливающим это действие, является фенильная группа. Противозепилептическими свойствами обладает и фенитоин (14.7) (5,5-дифенилгидантоин), также содержащий фенильную группу в молекуле. При этом в отличие от фенобарбитала он снотворным действием не обладает. Противозепилептическое действие лекарственных веществ, которые к классу депрессантов не относятся, связано с их способностью снижать повышенную электрическую активность мозга, характерную для эпилептического припадка [613].

Для ознакомления с физическими механизмами действия биологических депрессантов см. [1031].

## 2. Соединения, нарушающие нормальный ход митоза

Многие депрессанты оказывают неблагоприятное воздействие на митоз. При этом хромосомы продолжают делиться, но дочерние хромосомы остаются друг подле друга, а не расходятся к полюсам. Веретено разрушается, и хромосомы сохраняют положение, характерное для метафазы. Из большого числа инертных соединений, действующих подобным образом, можно назвать следующие: гексан и другие алифатические углеводороды, спирты, эфир, хлороформ, ацетон, паральдегид, ацетамид, уретан, ацетофенон, бензофенон, ацетанилид, бензол, хлорбензол, сульфонал [1072] и, кроме того, азот и аргон под давлением [512].

Этот эффект, который отмечается при тех же концентрациях, при которых депрессанты действуют на нервную систему позвоночных, представляет собой в сущности типичный случай биологического угнетения. Этот эффект угнетения исчезает, как только концентрация агента падает. Колхицин также относится к агентам, нарушающим митоз, однако это агент совсем иного типа: он эффективен при очень низких значениях термодинамической активности, и к тому же характер его действия меняется в результате даже незначительных вариаций в структуре молекулы. Следует, далее, отметить, что вещества (например, фенолы, производные кумарина, горчичный газ), вызывающие грубые и необратимые нарушения, например разрыв хромосом, не обладают физическими свойствами структурно индифферентных депрессантов.

## 3. Порошкообразные вещества, обладающие сорбтивными свойствами

Для объяснения инсектицидной активности порошкообразных веществ, обладающих сорбтивными свойствами, в 1936 г. было выдвинуто предположение [568], согласно которому эти вещества оказывают обезвоживающее действие. Сюда относятся кремнезем, доломит, каолин и карборунд. Применение этих инсектицидов в широких масштабах часто оказывалось очень эффективным [453, 1410].

После контакта с инсектицидом насекомые погибают в течение одного дня. В настоящее время считается, что под влиянием стрессорного воздействия этих инсектицидов *corpus cardiaca* насекомого выделяет вещество, способное оказывать на него парализующее действие. Тот же эффект достигается посредством обездвиживания.

# Связь между ионизацией и антибактериальной активностью в ряду производных акридина

№	Соединение (нумерация по системе IUPAC) 2)	Минимальные разведения 1)					Вестиерстатический индекс (сумма показаний для всех пяти микроорганизмов)	pK <sub>a</sub> в воде при 37°	Средняя ионизация при 37° и pH 7,3, %
		<i>Clostridium welchii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Акридин	3	1	1	0	1	6	5,3	1,0
2	4-Метилакридин	2	0	0	0	0	2	5,2	0,9
3	2-Метилакридин	0	0	0	0	0	0	5,9	4,0
4	9-Метилакридин	3	0	0	0	0	3	6,0	5,0
5	1,2,4,5,7,8-Гексаметилакридин	0	0	0	0	0	0	4,3	< 0,1
6	4-Метоксинакридин	3	0	0	0	0	3	4,6	0,2
7	2-Метоксинакридин	3	2	1	0	0	6	4,7	0,3
8	3,6-Диметоксинакридин	5	4	0	0	0	9	6,1	6,0
9	4-Ацетамидоакридин	2	1	0	0	0	3	2,9	< 0,1
10	3-Ацетамидоакридин	2	2	0	0	0	4	5,5	1,6
11	2-Ацетамидоакридин	4	2	1	1	1	9	4,6	0,2
12	1-Ацетамидоакридин	0	0	0	0	0	0	4,3	0,1
13	9-Ацетамидоакридин	0	0	0	0	0	0	4,2	< 0,1
14	4-Оксакридин	5	4	3	0	0	12	4,6	0,2
15	3-Оксакридин	3	2	1	0	0	6	5,3	1,0
16	2-Оксакридин	0	0	0	0	0	0	4,6	0,2
17	1-Оксакридин	0	0	0	0	0	0	4,9	0,4
18	9-Оксакридин (акридон)	0	0	0	0	0	0	-0,3	< 0,1
19	4-Аминоакридин	2	1	1	0	0	4	4,2	< 1
20	3-Аминоакридин	6	5	3	4	3	21	7,7	72
21	2-Аминоакридин	5	2	1	0	0	8	5,6	2
22	1-Аминоакридин	5	2	1	1	0	9	5,7	2
23	9-Аминоакридин (Аминакрин, В. Р.) (8.16)	7	6	4	4	4	25	9,6	99
24	2-Аминоакридин	2	2	1	0	0	5	5,1	0,6
25	4,9-Диаминоакридин	5	5	4	4	4	22	9,0	98
26	4,5-Диаминоакридин	0	0	0	0	0	0	3,8	< 1
27	3,9-Диаминоакридин	7	6	2	2	0	17	11,1	100
28	3,8-Диаминоакридин	7	7	4	4	4	26	9,0	98
29	3,7-Диаминоакридин	7	6	4	5	4	26	7,8	76
30	3,6-Диаминоакридин (Профлавин, В. Р.) (1.5)	7	6	4	3	2	22	9,3	99
31	3,5-Диаминоакридин	4	3	0	2	0	9	7,0	33
32	2,9-Диаминоакридин	7	6	2	2	1	18	10,0	100
33	2,7-Диаминоакридин	5	3	1	0	0	9	5,8	4
34	1,9-Диаминоакридин	5	5	3	3	2	18	10,7	100
35	2-Амино-9-метилакридин 3)	5	3	2	0	0	10	5,8	3
36	9-Амино-4-метилакридин	7	7	5	4	4	27	9,8	100
37	9-Амино-3-метилакридин	6	6	4	3	2	21	9,8	100
38	9-Амино-2-метилакридин	7	6	4	4	2	23	9,6	100

№	Соединение (нумерация по системе IUPAC) 2)	Минимальные разведения 1)					Гистриотоксический индекс (сумма показателей для всех пяти микроорганизмов)	pK <sub>a</sub> в воде при 37°	Степень ионизации при 37° и pH 7,3, %
		<i>Clostridium welchii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
39	9-Ампио-1-метилакридин	6	7	4	4	4	25	9,6	100
40	9-Ампио-2,4-диметилакридин	8	7	5	3	1	24	10,3	100
41	9-Ампио-4,5-диметилакридин	8	7	5	4	3	27	9,1	98
42	9-Ампио-4-этилакридин	7	6	4	3	2	22	10,0	100
43	3,6-Диамино-4,5-диметилакридин	9	8	6	4	3	30	8,8	97
44	3,6-Диамино-2,7-диметилакридин	8	6	4	3	0	21	9,8	100
45	3,6-Диамино-1,8-диметилакридин	8	8	2	4	0	22	10,2	100
46	3-Амино-9-хлоракридин	1	0	0	0	0	1	6,4	11
47	3-Ампио-7-хлоракридин	5	4	3	1	0	13	6,7	20
48	3-Ампио-6-хлоракридин	4	4	3	2	0	13	7,0	24
49	2-Амино-6-хлоракридин	0	0	0	0	0	0	4,1	< 1
50	9-Амино-4-хлоракридин	6	5	4	3	2	20	8,0	83
51	9-Амино-3-хлоракридин	7	6	5	5	3	26	8,7	98
52	9-Амино-2-хлоракридин	7	6	5	4	4	26	8,5	94
53	9-Амино-1-хлоракридин	6	6	4	4	2	22	8,1	86
54	3,6-Диамино-2,7-дихлоракридин	8	6	4	5	0	23	8,0	83
55	9-Амино-4-метоксинакридин	7	6	4	3	2	22	9,7	100
56	9-Амино-3-метоксинакридин	7	6	5	4	3	25	9,9	100
57	9-Амино-2-метоксинакридин	7	7	5	4	2	25	9,4	99
58	9-Амино-1-метоксинакридин	7	6	4	3	2	22	10,0	100
59	3,9-Диамино-7-этоксинакридин (Риванол)	6	7	4	3	0	20	11,2	100
60	9-Амино-3-хлор-7-метоксинакридин	8	6	5	2	0	21	8,4	93
61	9-Амино-4-оксинакридин	5	5	3	3	3	19	Z 4)	24
62	9-Амино-3-оксинакридин	2	4	0	0	0	6	Z	9
63	9-Амино-2-оксинакридин	4	6	2	0	0	12	Z	56
64	9-Амино-1-оксинакридин	3	3	1	0	0	7	Z	2
65	9-Амино-4-нитроакридин	6	7	4	4	3	24	7,6	67
66	9-Ампио-3-нитроакридин	6	10	6	5	3	30	7,6	67
67	9-Ампио-2-нитроакридин	7	6	5	4	2	24	7,7	72
68	9-Амино-1-нитроакридин	7	8	6	4	2	27	7,4	56
69	9-Ампио-3-нитро-7-этоксинакридин	7	8	4	0	0	19	7,4	56
70	9-Амино-4-фенилакридин	5	5	3	2	0	15	9,0	98
71	9-Амино-2-фенилакридин	8	7	6	3	0	24	9,5	99
72	3-Амино-9-л-аминофенилакридин	6	4	3	1	0	14	8,0	83
73	3,6-Диамино-2,7-диметил-9-фенилакридин	5	5	5	1	0	16	9,4	99
74	9-Амино-2-цианакридин	7	5	4	4	3	23	7,8	76
75	9-Метиламиноакридин	7	6	4	2	3	22	9,9	100
76	3-Диметиламиноакридин	5	5	3	2	0	15	8,1	86
77	3-Диметиламино-7-аминоакридин	6	5	3	1	0	15	8,3	90
78	3,6-бис-Диметиламиноакридин (акридин-новый оранжевый)	5	6	4	2	0	17	10,1	100
79	9-(β-Оксиптил)-аминоакридин	5	5	2	2	1	15	9,1	98
80	Гидроокись 10-метилакридиния	0	0	0	0	0	0	(нестабильно)	3
81	Гидроокись 3-амино-10-метилакридиния	6	7	1	5	0	19	12,0	100
82	Гидроокись 2-амино-10-метилакридиния	1	2	0	0	0	3	(нестабильно)	?
83	Гидроокись 1-амино-10-метилакридиния	3	3	2	0	0	8	То же	?
84	Гидроокись 9-амино-10-метилакридиния	6	6	4	4	3	23	10,7	100

№	Соединение (нумерация по системе IUPAC) <sup>2)</sup>	Минимальные разведения <sup>1)</sup>					Бактериостатический индекс (сумма показаний для всех пяти микроорганизмов)	pK <sub>a</sub> в воде при 37°	Средняя ионизация при 37° и pH 7,3, %
		<i>Clostridium welchii</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
85	Гидроокись 2-амино-9,10-диметилакридиния	5	5	3	2	0	15	9,4	100
86	Гидроокись 3,6-диамино-10-метилакридиния (основание зуфлавина)	7	8	3	3	1	22	> 12	100
87	β-Амино-9-этилакридин	6	6	2	3	2	19	8,9	98
88	α-Амино-9-стирилакридин	0	0	0	0	0	0	5,5	2
89	Акридин-2-сульфокислота	0	0	0	0	0	0	Z <sup>4)</sup>	< 1
90	Акридин-4-карбоновая кислота							Z	< 1
91	Акридин-2-карбоновая кислота							Z	< 1
92	Акридин-9-карбоновая кислота							Z	< 1
93	Метилловый эфир акридин-9-карбоновой кислоты	0	0	0	0	0	0	3,5	< 1
94	3-Аминоакридин-7-сульфокислота	1	0	0	0	0	1	Z	< 1
95	3-Аминоакридин-7-сульфамид	4	2	0	2	0	8	6,9	29
96	3-Аминоакридин-7-карбоновая кислота	0	0	0	0	0	0	Z	< 1
97	Метилловый эфир 3-аминоакридин-7-карбоновой кислоты	1	0	0	0	0	1	6,8	24
98	9-Аминоакридин-4-карбоновая кислота	0	0	0	0	0	0	Z	< 1
99	9-Аминоакридин-2-карбоновая кислота	0	0	0	0	0	0	Z	< 1
100	Метилловый эфир 9-аминоакридин-2-карбоновой кислоты	7	6	5	2	0	20	8,3	90
101	Амид № 99	3	5	2	3	2	15	8,5	94

1) Минимальные разведения—разведения, при которых видимый рост полностью прекращается через 48 час при 37° (среда: бульон, содержащий 10% сыворотки; pH 7,2—7,4).

Ключ к разведениям:

0—рост при разведении 1 : 50000

1—торможение роста при разведении 1 : 5000

2—торможение роста при разведении 1 : 1000

3—торможение роста при разведении 1 : 2000

4—торможение роста при разведении 1 : 4000

5—торможение роста при разведении 1 : 8000

6—торможение роста при разведении 1 : 16000

7—торможение роста при разведении 1 : 32000

8—торможение роста при разведении 1 : 64000

9—торможение роста при разведении 1 : 128000

10—торможение роста при разведении 1 : 250000

2) Нумерацию акридиновых колец по системе IUPAC см. на стр. 228.

3) Для других слабо ионизованных аминотилакридина приведены в табл. 27.

4) Z—циктерон (см. [36, 37]).

Результаты бактериологических исследований см. [50]; значение pK<sub>a</sub> см. [28].

Расчет степени ионизации (в процентах)  
при заданных значениях  $pK_a$  и  $pH$

$pK_a - pH$	Концентрация анионной фор- мы, %	Концентрация катионной фор- мы, %	$pK_a - pH$	Концентрация анионной фор- мы, %	Концентрация катионной фор- мы, %
1	2	3	1	2	3
-6,0	99,99990	0,0000999	+0,1	44,27	55,73
-5,0	99,99900	0,0009999	+0,2	38,68	61,32
-4,0	99,99900	0,0099990	+0,3	33,39	66,61
-3,5	99,968	0,0316	+0,4	28,47	71,53
-3,4	99,960	0,0398	+0,5	24,03	75,97
-3,3	99,950	0,0501	+0,6	20,07	79,93
-3,2	99,937	0,0630	+0,7	16,63	83,37
-3,1	99,921	0,0794	+0,8	13,70	86,30
			+0,9	11,19	88,81
-3,0	99,90	0,09991	+1,0	9,09	90,91
-2,9	99,87	0,1257			
-2,8	99,84	0,1582	+1,1	7,36	92,64
-2,7	99,80	0,1991	+1,2	5,93	94,07
-2,6	99,75	0,2505	+1,3	4,77	95,23
			+1,4	3,83	96,17
-2,5	99,68	0,3152	+1,5	3,07	96,93
-2,4	99,60	0,3966			
-2,3	99,50	0,4987	+1,6	2,450	97,55
-2,2	99,37	0,6270	+1,7	1,956	98,04
-2,1	99,21	0,7879	+1,8	1,560	98,44
			+1,9	1,243	98,76
-2,0	99,01	0,990			
-1,9	98,76	1,243	+2,0	0,990	99,01
-1,8	98,44	1,560	+2,1	0,7879	99,21
-1,7	98,04	1,956	+2,2	0,6270	99,37
-1,6	97,55	2,450	+2,3	0,4987	99,50
			+2,4	0,3966	99,60
-1,5	96,93	3,07	+2,5	0,3152	99,68
-1,4	96,17	3,83			
-1,3	95,23	4,77	+2,6	0,2505	99,75
-1,2	94,07	5,93	+2,7	0,1991	99,80
-1,1	92,64	7,36	+2,8	0,1582	99,84
			+2,9	0,1257	99,87
-1,0	90,91	9,09	+3,0	0,09991	99,90
-0,9	88,81	11,19			
-0,8	86,30	13,70	+3,1	0,0794	99,921
-0,7	83,37	16,63	+3,2	0,0630	99,937
-0,6	79,93	20,07	+3,3	0,0501	99,950
			+3,4	0,0398	99,960
-0,5	75,97	24,03	+3,5	0,0316	99,968
-0,4	71,53	28,47			
-0,3	66,61	33,39	+4,0	0,0099990	99,9900
-0,2	61,32	38,68	+5,0	0,0009999	99,99900
-0,1	55,73	44,27	+6,0	0,0000999	99,99990
0	50,00	50,00			

## Некоторые физические эффекты, наблюдаемые при введении заместителей

**Гидрофильные и липофильные заместители.** Для 203 моно- и дизамещенных производных бензола были определены коэффициенты распределения в системе 1-октанол/вода (преимущество дизамещенных производных заключается в том, что эффект от введения второго заместителя изучается на молекуле, уже обладающей двойственным или выравненным характером). На основании величин этих коэффициентов распределения для каждой из 67 функциональных групп была вычислена константа заместителя ( $\pi$ ). Эта константа может быть определена по формуле:  $\pi = \log P_x - \log P_H$ , где  $P_x$  — коэффициент распределения замещенного производного, а  $P_H$  — исходного вещества. Константа  $\pi$  изменяется для заданной функциональной группы в зависимости от распределения электронного облака, но предел этих изменений невелик. Значениями констант, полученными при введении заместителей в бензольное кольцо феноксиуксусной кислоты, рекомендуется пользоваться в тех случаях, когда в молекуле отсутствуют группы, способные активно взаимодействовать друг с другом, тогда как константы, которые были получены для замещенных фенола, следует употреблять тогда, когда заместитель находится в ароматическом амине или феноле [543]. Подобные же значения констант были получены для замещенных производных алифатического ряда [761]. В табл. 53 приведены некоторые из этих констант. Положительные величины указывают на липофильный, а отрицательные — на гидрофильный характер заместителей.

Таблица 53

Значения  $\pi$  для заместителей, введенных в бензольное кольцо феноксиуксусной кислоты и фенола, а также в соединения алифатического ряда

Заместитель	Феноксиуксусная кислота	Фенол	Соединения алифатического ряда
H	0	0	0
Cl	0,73	0,98	-0,13
I	1,20	1,46	—
CH <sub>3</sub>	0,52	0,52	0,52
изо-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	1,35	—	—
n-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	1,90	—	—
трет-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	1,68	—	—
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	1,89	—	2,11
CF <sub>3</sub>	1,07	1,49	—
COOH	-0,15	0,08	-1,26
COOCH <sub>3</sub>	—	—	-0,91
CONH <sub>2</sub>	—	—	-2,28
COCH <sub>3</sub>	-0,33	-0,09	-1,26
CN	-0,31	-0,19	-1,47
OH	-0,55	-0,76	-1,80
OCH <sub>3</sub>	0,08	0	-0,98
NH <sub>2</sub>	—	-1,46	-1,85
N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	—	0,10	-0,95
NO <sub>2</sub>	0,17	0,52	—
NHCOCH <sub>3</sub>	-0,79	—	—
SCH <sub>3</sub>	0,62	—	—
SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-1,26	—	—



Логарифм коэффициента распределения вещества в одной паре растворителей *линейно* зависит от логарифма коэффициента распределения этого вещества в другой паре растворителей [338]. Хотя приведенные в табл. 53 значения констант и не могут избавить нас от необходимости экспериментального определения константы  $\pi$  (для разных изучаемых веществ в тех или иных растворителях), таблица позволяет оценить общую тенденцию влияния заместителей. Значения констант ароматических соединений, приведенные в табл. 53, были получены для производных, замещенных в *мета*- и *пара*-положениях, для того чтобы избежать *орто*-эффекта, обуславливающего значительные отклонения. Величины констант для соединений алифатического ряда, как и можно было ожидать, ясно указывают на гидрофильный эффект, вызываемый неподеленной парой электронов у атома азота и двумя неподеленными парами электронов у атома кислорода. Константы приблизительно аддитивны. Поэтому введение метильных или других алкильных групп в алифатическую боковую цепь должно вызывать постепенное подавление гидрофильных свойств исходной молекулы.

Любое вещество, способное к ионизации, в ионизованном состоянии более гидрофильно. Учитывая значительное различие в свойствах ионов и соответствующих нейтральных частиц, необходимо знать  $pK_a$  агента и pH раствора, в котором проводится опыт, с тем чтобы можно было выяснить, какая именно ионная форма преобладает (гл. 8, разд. 1). Прочные водородные связи, образующиеся между молекулами, снижают и гидрофильность, и липофильность вещества; так, например, урацил (2,4-диоксиимидин) растворим значительно хуже пиридина не только в воде, но также в хлороформе и в маслах. Из этого можно заключить, что утрата гидрофильных свойств не обязательно приводит к появлению липофильности.

Теперь несколько слов о заместителях, не приведенных в табл. 53. Альдегидная группа более гидрофильна, чем кетогруппа, а сульфамидогруппа ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) обладает сильно выраженными гидрофильными свойствами. Стоящий у двойной связи в пиридине атом азота гидрофилен, тогда как в пирроле атом азота соединяется только одинарными связями, и поэтому пиррол не имеет ни гидрофильных, ни липофильных свойств.

Каждая двойная связь углерод — углерод несколько повышает гидрофильность, а тройная связь увеличивает ее гораздо сильнее. Липофильный эквивалент фенила в алифатическом ряду — пропил, эквивалент индолила — бутил, нафтила — гексил, а декагидронафтила — октил. Эти данные получены при исследовании эффектов заместителей с помощью коацерватов [1453]. Амино- и оксигруппы образуют внутримолекулярные водородные связи с нитрогруппой или со стоящим у двойной связи гетероциклическим атомом азота (как в пиридине), в результате чего и гидрофильность, и липофильность могут сильно понизиться.

Нитрогруппа или атом азота с двойной связью в гетероциклическом кольце легко связывают группы, содержащие способные связываться атомы азота и поэтому значительно понижают и гидрофильность, и липофильность. Однако *о*-нитрофенол жирорастворим именно вследствие образования внутримолекулярной водородной связи.

*Электроноакцепторные и электронодонорные заместители.* Гаммет [642] предложил в качестве удобного способа измерения электроноакцепторного (или электронодонорного) эффекта заместителя пользоваться константой сигма ( $\sigma$ ), которую можно представить как разность между логарифмами констант ионизации замещенных бензойной кислоты и самой бензойной кислоты. Для того чтобы избежать «орто-эффекта», рассматриваются только производные с заместителями в *пара*- и *мета*-положениях по отношению к реагирующей группе.

В табл. 54 приведены некоторые константы ионизации ароматических и алифатических кислот.

Таблица 54

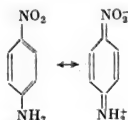
Константы ионизации карбоновых кислот  
(в воде при 20—25°)<sup>1)</sup>

Заместитель	Бензойная кислота (заместитель в <i>meta</i> -положении)	Разность	Уксусная кислота	Разность
H	4,17	0	4,76	0
F	3,87	-0,30	2,57	-2,19
Cl	3,83	-0,34	2,86	-1,90
Br	3,81	-0,36	2,90	-1,86
I	3,85	-0,32	3,16	-1,60
CH <sub>3</sub>	4,27	0,10	4,87	0,11
C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	—	—	4,86	0,10
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	—	—	4,31	-0,45
COOH	2,86	-1,31	2,86	-1,90
COOCH <sub>3</sub>	—	—	3,35	-1,41
CONH <sub>2</sub>	—	—	3,64	-1,12
COCH <sub>3</sub>	3,83	-0,34	3,58	-1,18
CN	3,60	-0,57	2,47	-2,29
OH	4,08	-0,09	3,83	-0,93
OCH <sub>3</sub>	4,09	-0,08	3,53	-1,23
OCOCH <sub>3</sub>	4,00	-0,17	—	—
NH <sub>2</sub>	4,74	0,57	2,22	-2,54 <sup>2)</sup>
NO <sub>2</sub>	3,49	-0,68	1,68	-3,08
NHCOCH <sub>3</sub>	4,07	-0,10	—	—
SH	—	—	3,68	-1,08
SCH <sub>3</sub>	—	—	3,72	-1,04
SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	—	—	2,36	-2,40
SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	3,54	-0,63	—	—

1) Отрицательные величины означают усиление кислотности, т. е. соответствуют электроакцепторной функциональной группе.

2) В этом случае заместитель — группа NH<sub>2</sub>.

Влияние заместителей на ионизацию обычно значительно более заметно в алифатическом ряду, поскольку заместитель ближе к ионизирующей группе на два атома углерода. В ароматическом ряду разница между *meta*- и *para*-изомерами невелика, кроме тех случаев, когда возможно появление *para*-мезомерного эффекта (резонанса), как это наблюдается для *p*-нитроанилина (см. ниже), *p*-нитрофенола, *p*-аминобензойной кислоты и *p*-метоксибензойной кислоты.

Мезомерный эффект в молекуле *p*-нитроанилина

Электроакцепторные винильная и фенильная группы приобретают слабые электронодонорные свойства в тех случаях, когда между этими заместителями и группой, способной ионизоваться, вводится алифатическая цепь. Азот в гетероциклах, соединенный двойной связью (например, в пиридине), имеет сильные электроакцепторные свойства, тогда как азот в пирроле, который соединен одинарными связями, обладает сильными электронодонорными свойствами.

Подробные сообщения по этому вопросу см. в работе [771].

Таблица синонимов лекарственных веществ

Названия лекарственных препаратов, приводимые Э. Альбертом в своей книге	Названия лекарственных препаратов, принятые в СССР
Акрифлавин (зуфлавин)	Флавакридин
Алкопар	Нафтамон
Аметокаин	Дикаин
Амлобарбитал (амитал)	Барбамил
Ампитал (амидобарбитал)	Барбамил
Амфетамин (бензедрин)	Фенамин
Антабус (дисульфирам)	Тетурам
Атебрин (мепакрин, хинакрин)	Акрихин
Ацетазоламид	Диакарб
Барбитал (веронал)	Барбитал
Бензедрин (амфетамин)	Фенамин
Беркулон А (нойштаб, сероден, тиацетазон, тибон, тиопарамизон)	Тибон
Бусульфам (миллеран)	Миелосан
Бутазолдин (фенилбутазон)	Бутадион
Веронал	Барбитал
Виноформ (подохлоргидроксизин, хиниоформ)	Энтеросептол
Галламин	Ремниолан
Галотан	Фторотан
Гексаметоний	Гексовий
Гетразан (диэтилкарбамазин)	Дитразин
Гидралазин	Апрессин
Давозин (ледеркин)	Сульфациридазин
Дансон	Диафенилсульфон
Дараприм (пириметамин)	Хлоридин
Дикмарол	Дикумарин
Димеркапрол	БАЛ
Дисульфирам (антабус)	Тетурам
Диэтилкарбамазин (гетразан)	Дитразин
Изониазид	Тубазид
Иодхлороксизин (виоформ, хиниоформ)	Энтеросептол
Карбахол	Карбахолин
Ксилокаин (лигнокаин)	Ксикаин
Ледеркин (давозин)	Сульфациридазин
Лигнокаин (ксилокаин)	Ксикаин
Мадрибон (сульфадиметоксин)	Сульфодиметоксин
Мелфелан	L-Сарколизин
Мепакрин (атебрин, хинакрин)	Акрихин
Метадон	Фенадон
5-Метилфуртрегоний	Метилфурметид
Метиприлон	Димерин
Метотрексат	Аметоптерин
Миллеран (бусульфам)	Миелосан
Нембутал (пентабарбитал)	Этаминал
Неоарсфенамин	Новарсенол
Неостигмин	Прозерин
Нитрофуразон	Фурацилин
Нитрофурантоин	Фурадонин
Нойштаб (беркулон А, сероден, тиацетазон, тибон, тиопарамизон)	Тибон
Оксамицин	Циклосерин
Пентобарбитал (нембутал)	Этаминал
Пириметамин (дараприм)	Хлоридин
Прогуанил (хлоргуанид)	Бигуаль
Прокаин	Новокаин
Прометазин	Дипразин
Сероден (беркулон А, нойштаб, тиацетазон, тибон, тиопарамизон)	Тибон
Стильбэстрол	Диэтилстильбэстрол
Суксаметоний	Дитилин
Сульфатуанидин	Сульгин

Продолжение табл. 55

Названия лекарственных препаратов, приводимые Э. Альбертом в своей книге	Названия лекарственных препаратов, принятые в СССР
Сульфадиазип	Сульфазин
Сульфадиметоксин (мадрибон)	Сульфодиметоксин
Сульфазомидип	Домипан
Сульфатиазол	Норсульфазол
Тиаетазон (беркулон)	
Тибион (сероден, тиопарампзон, нойштаб)	Тибон
Тиопентал	
Фенилбутазон (бутазолидин)	Тиопентал — натрий
Фенобарбитал	Бутадион
Хипакрин (атебрин, мепакрин)	Фенобарбитал
Хинниоформ (виоформ)	Акрихин
Хлорамбуцил	Энтеросептол
Хлорамфеникол	Хлорбутин
Хлорбутол	Левомецетин
Хлоргуанид (прогуанил)	Хлорбутанол гидрат
Хлормеродип	Бигумаль
Хлорохин	Промеран
Хлорпромазин	Хингамин
Циклофосфамин (эндоксан)	Аминазин
Цистеамин	Циклофосфан
Эдетат кальция	Меркамин
Эндоксан (циклофосфамид)	ЭДТА-кальций
Эуфлавин (акрифлавин)	Циклофосфан
	Флавакридин

# Литература

1. Abbott B., Howarth J., Ritchie J., *J. Physiol.*, **178**, 368 (1965).
2. Abraham E., *Biochemistry of Some Peptide and Steroid Antibiotics*, New York, Wiley, 1957.
3. Abraham E., *Pharmacol. Rev.*, **14**, 473 (1962).
4. Abramson M., Katzman R., Gregor H., *Fed. Proc.*, **24**, 345 (1965).
5. Acheson G. (ed.), *Symposium on Catecholamines*, *Pharmacol. Rev.*, **18**, 1 (1966).
6. Acs G., Reich E., Mori M., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **52**, 493 (1964).
7. Adam N. K., *The Physics and Chemistry of Surfaces*, 3rd Ed., Oxford, The University Press, 1941.
8. Adams J., *J. Pharm. Pharmacol.*, **10**, 507, 516 (1958).
9. Adams S., Cobb R., *Nature, Lond.*, **181**, 773 (1958).
10. Adamson R., Bridges J., Williams R., *Biochem. J.*, **101**, 71p (1966).
11. Adcock E., *J. Exper. Biol.*, **17**, 449 (1940).
12. Addanki S., Cahill F., Sotos J., *Nature, Lond.*, **214**, 400 (1967).
13. Adler R., Snoke J., *J. Bact.*, **83**, 1315 (1962).
14. Adler S., Tchernomoretz I., *Ann. Trop. Med.*, **36**, 11 (1942).
15. Adler T., *J. Pharmacol.*, **140**, 155 (1963).
16. Agar A., Alexander A., *Trans. Farad. Soc.*, **45**, 528 (1949).
17. Ågren A., *Acta Chem. Scand.*, **8**, 1059 (1954).
18. Ahlquist R., *Amer. J. Physiol.*, **153**, 586 (1948).
19. Ajello T., Ptozzi F., Quillico A., Sprio V., *Gazz. chim. ital.*, **93**, 867 (1963).
20. Alauddin M., Caddy B., Lewis J., Martin-Smith M., Suggs M., *J. Pharm. Pharmacol.*, **17**, 55 (1965).
21. Albert A., *Med. J. Australia*, **i**, 245 (1944).
22. Albert A., *Report of 3rd Symp. Soc. Exper. Biol. Cambridge, University Press*, 1949.
23. Albert A., *Biochem. J.*, **47**, 531 (1950).
24. Albert A., *Biochem. J.*, **50**, 690 (1952).
25. Albert A., *Biochem. J.*, **54**, 646 (1953).
26. Albert A., *Nature, Lond.*, **177**, 525 (1956).
27. Albert A., *Biochem. J.*, **65**, 124 (1957).
28. Albert A., *The Acridines, their Preparation, Properties, and Uses*, 2nd Ed., London, Edward Arnold, 1966.
29. Albert A., *Heterocyclic Chemistry, an Introduction*, 2nd ed., London, Athlone Press, 1968.
30. Albert A., Armarego W., *Advances in Heterocyclic Chemistry*, **4**, 1 (1965).
31. Albert A., Armarego W., Spinner E., *J. Chem. Soc.*, 2689, 5267 (1961).
32. Albert A., Brown D., Cheeseman G., *J. Chem. Soc.*, 1620 (1952).
33. Albert A., Brown D., Cheeseman G., *J. Chem. Soc.*, 4219 (1952).
34. Albert A., Falk J., Rubbo S., *Nature, Lond.*, **153**, 712 (1944).
35. Albert A., Gibson M., Rubbo S., *Brit. J. Exper. Path.*, **34**, 119 (1953).
36. Albert A., Goldacre R., *J. Chem. Soc.*, 706 (1946).
37. Albert A., Goldacre R., *Nature, Lond.*, **161**, 95 (1948).
38. Albert A., Goldacre R., Phillips J., *J. Chem. Soc.*, 2240 (1948).
39. Albert A., Hampton A., *J. Chem. Soc.*, 4985 (1952).
40. Albert A., Hampton A., *J. Chem. Soc.*, 505 (1954).
41. Albert A., Hampton A., Selbie F., Simon R., *Brit. J. Exper. Path.*, **35**, 75 (1954).
42. Albert A., Howell C., *J. Chem. Soc.*, 1591 (1962).
43. Albert A., Howell C., Spinner E., *J. Chem. Soc.*, 2595 (1962).
44. Albert A., Rees C., *Nature, Lond.*, **177**, 433 (1956).
45. Albert A., Rees C., Tomlinson A., *Brit. J. Exper. Path.*, **37**, 500 (1956).
46. Albert A., Reich F., *J. Chem. Soc.*, 127 (1961).
47. Albert A., Rubbo S., Burvill M., *Brit. J. Exper. Path.*, **30**, 159 (1949).
48. Albert A., Rubbo S., Goldacre R., *Nature, Lond.*, **147**, 332 (1941).
49. Albert A., Rubbo S., Goldacre R., Balfour B., *Brit. J. Exper. Path.*, **28**, 69 (1947).
50. Albert A., Rubbo S., Goldacre R., Davey M., Stone J., *Brit. J. Exper. Path.*, **26**, 160 (1945).
51. Albert A., Serjeant E., *Biochem. J.*, **76**, 621 (1960).

52. Albert A., Serjeant E., Ionization Constants of Acids and Bases, a Laboratory Manual, London, Methuen, 1962.
53. Albiston H., Bull L., Dick A., Keast J., Austral. Vet. J., **16**, 233 (1940).
54. Alcock N., Macintyre I., Biochem. J., **76**, 19P (1960).
55. Aldridge W., Biochem. J., **69**, 367 (1958).
56. Aldridge W., Barnes J., Nature, Lond., **169**, 345 (1952).
57. Aldridge W., Davidson A., Biochem. J., **52**, 663 (1952).
58. Alexander A., Trim T., Proc. Roy. Soc., B, **113**, 220 (1946).
59. Allen D., Zamecnik P., Biochim. et Biophys. Acta, **55**, 865 (1962).
60. Alles G., Knoefel P., Univ. Calif. Publ. Pharmacol., **1**, 187 (1939).
61. Allison A., Nash T., Nature, Lond., **197**, 758; **199**, 469 (1963).
62. Allison J., O'Brien R., Hahn F., Science, **149**, 1111; Antimicrob. Agents and Chemother., **310** (1965).
63. Almeida J., Waterson A., J. Gen. Microbiol., **46**, 107 (1967).
64. Ambler R., Rees M., Nature, Lond., **186**, 56 (1959).
65. Ames B., Dubin D., Biol. Chem., **235**, 769 (1960).
66. Anand N., Davis B., Armitage A., Nature, Lond., **185**, 23 (1960).
67. Anderegg G., L'Eplattenier F., Schwarzenbach G., Helv. Chim. Acta, **46**, 1400 (1963).
68. Anderson B., Swaby R., Austral. J. Sci. Res., B, **4**, 275 (1951).
69. Anderson J., Matsubashi M., Hoskin M., Strominger J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **53**, 881 (1965).
70. Androes G., Calvin M., Biophys. J., **2**, 217 (S) (1962).
71. Anker R., Cook A., J. Chem. Soc., **58** (1946).
72. Anton A., J. Pharmacol., **129**, 282 (1960).
73. Archer S., Lands A., Lewis T., J. Med. Pharm. Chem., **5**, 423 (1962).
74. Ariens E., Arch. internat. Pharmacodyn., **99**, 32 (1954).
75. Ariens E., Adrenergic Mechanisms (J. Vane, G. Wolstenholme, and M. O'Connor eds.), London, Churchill (1960).
76. Ariens E., Molecular Pharmacology, London, Academic Press, 1964.
77. Ariens E., van Rossum J., Simonis A., Pharmacol. Rev., **9**, 218 (1957).
78. Armitage A., Ing H., Brit. J. Pharmacol., **9**, 376 (1954).
79. Armstrong G., Bradbury F., Standen H., Ann. Appl. Biol., **38**, 555 (1951).
80. Arnold H., Bourseaux F., Brock N., Nature, Lond., **181**, 931 (1958).
81. Aronson J., Meyer W., Brock T., Nature, Lond., **202**, 555 (1964).
82. Arunlakshana O., Schild H., Brit. J. Pharmacol., **14**, 48 (1959).
83. van Asperen N., Oppenoorth F., Entomol. Exptl. et Appl., **3**, 68 (1960).
84. Atkinson M., Morton R., Murray A., Biochem. J., **89**, 167 (1963).
85. Audus L., The Physiology and Biochemistry of Herbicides, New York, Academic Press, 1964.
86. Axelrod J., Adrenergic Mechanisms (J. Vane, G. Wolstenholme, and M. O'Connor eds.), London, Churchill (1960).
87. Bacon J., Milne B., Taylor L., Webbley D., Biochem. J., **95**, 28C (1965).
88. Baddiley J., J. Roy. Inst. Chem., **86**, 366 (1962).
89. Badger G., Nature, Lond., **158**, 585 (1946).
90. Badger G., Nature, Lond., **159**, 194 (1947).
91. Badger G., J. Chem. Soc., 456 (1949).
92. Badger G., The Chemical Basis of Carcinogenic Activity, Springfield, Ill, Charles C. Thomas, 1962.
93. Badger G., Elson L., Haddow A., Hewett C., Robinson A., Proc. Roy. Soc., B, **130**, 255 (1941).
94. Baird W., Hardman H., J. Pharmacol., **132**, 382 (1961).
95. Baker B., Lee W., Martinez A., Ross L., Goodman L., J. Org. Chem., **27**, 3283 (1962).
96. Baker B., Lee W., Ross L., Martinez A., J. Theoret. Biol., **3**, 446 (1962).
97. Baker B., Shapiro H., J. Pharm. Sci., **55**, 308 (1966).
98. Baldwin E., Brit. J. Pharmacol., **3**, 91 (1948).
99. Baldwin E., An Introduction of Comparative Biochemistry, 3rd Ed., Cambridge, University Press, 1948.
100. Ball E., Joel C., Internat. Rev. Cytol., **13**, 99 (1962).
101. Ball W., French O., Bull. Univ. Calif. Agric. Exper. Station, **596**, 5 (1935).
102. Ballard B., Nelson E., J. Pharm. Sci., **51**, 915 (1962).
103. Ballou C., Pizer L., J. Amer. Chem. Soc., **82**, 3333 (1960).
104. Bangham A., Standish M., Weissman G., J. Mol. Biol., **13**, 253 (1965).
105. Bard R., Gunsalus L., J. Bact., **59**, 387 (1950).
106. Barger G., Dale H., J. Physiol., **41**, 19 (1910).
107. Barker H., Smyth R., Weissbach H., Toohey J., Ladd J., Volcani B., J. Biol. Chem., **235**, 480 (1960).
108. Barlin G., Perrin D., Quart. Rev. (Chem. Soc., London), **20**, 75 (1966).

109. Barlow R., Chemical Pharmacology, 2nd E., London, Methuen, 1964.
110. Barlow R., Hamilton J., Brit. J. Pharmacol., **18**, 510, 543 (1962).
111. Barlow R., Hamilton J., Brit. J. Pharmacol., **25**, 296 (1965).
112. Barlow R., Ing H., Brit. J. Pharmacol., **3**, 298 (1948).
113. Barlow R., Scott K., Stephenson R., Brit. J. Pharmacol., **21**, 509 (1963).
114. Barlow R., Zoller A., Brit. J. Pharmacol., **23**, 131 (1964).
115. Barnes J. et al., Nature, Lond., **180**, 62 (1957).
116. Barnes J., Stoner H., Brit. J. Industr. Med., **15**, 15 (1958).
117. Barron E., Advances Enzymol., **3**, 149 (1943).
118. Barry G., Cook J., Haslewood G., Hewett C., Kennaway E., Proc. Roy. Soc., B, **117**, 318 (1935).
119. Barry V., J. Proc. Roy. Inst. Chem., **78**, 313 (1954).
120. Bartlett G., Barron E., J. Biol. Chem., **170**, 67 (1947).
121. Barton D., Cookson R., Quart. Rev. (Chem. Soc. London), **10**, 44 (1956).
122. Basolo F., Pearson R., Mechanisms of Inorganic Reactions, New York, Wiley, 1958.
123. Bass W., Schueler F., Featherstone R., Gross E., J. Pharmacol., **100**, 465 (1950).
124. Batchelor F., Chain E., Richards M., Robinson G., Proc. Roy. Soc., B, **154**, 522 (1961).
125. Bauer D., Dumbell K., Fox-Hulme P., Sadler P., Bull. World Health Org., **26**, 727 (1962).
126. Bauer D., Sadler P., Nature, Lond., **190**, 1167 (1961).
127. Bauer D., St. Vincent C., Kempe C., Downie A., Lancet ii, 494 (1963).
128. Baur E., Preis H., Z. physik. Chem., **32 B**, 65 (1936).
129. Bayer M., Anderson T., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **54**, 1592 (1965).
130. Beard R., Ann. Rev. Entomol., **8**, 1 (1963).
131. Bebbington A., Brimblecombe R., Rowsell D., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **26**, 68 (1966).
132. Bebbington A., Brimblecombe R., Shakeshaft D., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **26**, 56 (1966).
133. Bechhold H., Ehrlich P., Z. physiol. Chem., **47**, 173 (1906).
134. Beckett A., Arzneimittelforschung (Basel), **1**, 455 (1959).
135. Beckett A., Casy A., J. Pharm. Pharmacol., **6**, 986 (1954).
136. Beckett A., Casy A., Progress Medicinal Chem., **2**, 43 (1962).
137. Beckett A., Harper N., Clithrow J., J. Pharm. Pharmacol., **15**, 362 (1963).
138. Beckett A., Patki S., Robinson A., J. Pharm. Pharmacol., **11**, 360 (1959).
139. Beckett A., Smith Z., Nature, Lond., **178**, 742 (1956).
140. Beckett A., Vahora A., Robinson A., J. Pharm. Pharmacol., **10**, 160T (1958).
141. Bell D., Grant J. (eds.), The Structure and Function of the Membranes and Surfaces of Cells, Biochem. Soc. Symp., **22**, Cambridge, University Press (1963).
142. Bell P., Roblin R., J. Amer. Chem. Soc., **64**, 2905 (1942).
143. Belleau B., Adrenergic Mechanisms (J. Vane, G. Wolstenholme, and M. O'Connor, eds.), London, Churchill (1960).
144. Belleau B., Biochem. Pharmacol., **12** (supp.), 143 (1963).
145. Belleau B., Advances in Drug Research, **2**, 89 (1965).
146. Belleau B., Puranen J., J. Med. Chem., **6**, 325 (1963).
147. Belleau B., Tani H., Lie F., J. Amer. Chem. Soc., **87**, 2283 (1965).
148. Белоцерский А. Н., Спирин А. С., Nature, Lond., **182**, 111 (1958).
149. Benda L., Ber. deutsch. chem. Ges., **45**, 1787 (with appendix by Ehrlich P.), (1912).
150. Pendaña F., Galston A., Kaur-Sawheny R., Penny P., Plant Physiol., **40**, 977 (1965).
151. Bender M., van Etten R., Clowes R., Sebastian J., J. Amer. Chem. Soc., **88**, 2318 (1966).
152. Bennett P., The Aetiology of Compressed Air Intoxication and Inert Gas Narcosis, London, Pergamon Press, 1966.
153. Bennetts H., Chapman F., Austral. Vet. J., **13**, 138 (1937).
154. Berenblum I., Schoental R., Biochem. J., **36**, 92 (1942).
155. Berends F., Posthumus C., van der Sluys I., Deierkauf F., Biochim. et Biophys. Acta, **34**, 576 (1959).
156. Bergel F., Ann. New York Acad. Sci., **68**, 1238 (1958).
157. Bergel F., Brit. Med. J., ii, 399 (1961).
158. Bergel F., Morrison A., Quart. Rev. (Chem. Soc., London), **2**, 349 (1948).
159. Bergel F., Todd A., J. Chem. Soc., 1504 (1937).
160. Bergmann F., Kwietny H., Levin G., Brown D. J., J. Amer. Chem. Soc., **82**, 598 (1960).
161. Berlinguet L., Gegin M., Sarkar M., Nature, Lond., **194**, 1082 (1962).

162. Bernal J., Fowler R., J. Chem. Phys., 1, 515 (1933).
163. Bernheim F., Bernheim M., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 7, 174 (1939).
164. Berry H., Cook A., Wills B., J. Pharm. Pharmacol., 8, 425 (1956).
165. Bessman S., Rubin M., Leikin S., Pediatrics, 14, 201 (1954).
166. Best G., Durham N., Bact. Proc., 73 (1965).
167. Beutler E., Blood, 14, 103 (1959).
168. Bevelander G., Makahara H., Rolle G., Nature, Lond., 184, 728 (1959).
169. Bhargava P., Heidelberger C., J. Amer. Chem. Soc., 78, 3671 (1956).
170. Bickel H., Gaumann E., Nussberger G., Reusser P., Vischer E., Voser W., Wettstein A., Zähler H., Helv. Chim. Acta, 43, 2105 (1960).
171. Bickel H., Hall G., Schierlein W., Prelog V., Vischer E., Wettstein A., Helv. Chim. Acta, 43, 2129 (1960).
172. Biggs R., Davis M., Wien R., Experientia, 20, 119 (1964).
173. Bijvoet J., Peerdeman A., van Bommel A., Nature, Lond., 168, 271 (1951).
174. Birch A., Holzapfel C., Rickards R., Djerassi C., Seidel P., Suzuki M., Westley J., Dutcher J., Tetrahed. Letters, 1491 (1964).
175. Birkinshaw J., Special Pub. Chem. Soc. (Lond.), 5, 1 (1956).
176. Birks R., Huxley R., Katz B., J. Physiol., 150, 134 (1960).
177. Bittar E., Cell pH, Washington, D.C., Butterworths, 1964.
178. Bjerrum J., Metal Ammine Formation in Aqueous Solution, Copenhagen, Haase, 1941.
179. Bjerrum J., Chem. Rev., 46, 381 (1950).
180. Bjerrum J., Schwarzenbach G., Sillén L., Stability Constants, Part I, Organic Ligands, London, The Chemical Society, 1957.
181. Blackman G., Agriculture, 53, 16 (1946).
182. Blackman G., J. Roy. Horticult. Soc., 73, 134 (1948).
183. Blackman G., Ann. Rev. Plant Physiol., 2, 199 (1951).
184. Blackman G., Nature, Lond., 174, 1179 (1954).
185. Blackman J., Ray C., Brit. J. Pharmacol. Chemother., 22, 56 (1964).
186. Blaschko H., Proc. Roy. Soc., B, 137, 307 (1950).
187. Blaschko H., Pharmacol. Rev., 4, 415 (1952).
188. Blaschko H., Pharmacol. Rev., 11, 307 (1959).
189. Block S., J. Agr. Food Chem., 4, 1042 (1956).
190. Blois M., Brown H., Maling J., Free Radicals in Biological Systems, New York, Academic Press, 1961.
191. Blombäck B., Yamashina I., Arkiv. Kemi, 12, 299 (1958).
192. Bloom B., Goldman I., Advances in Drug Res., 3, 121 (1966).
193. Blubaugh L., Botts C., Gerwe E., J. Bact., 39, 51 (1940).
194. Bock R., The Enzymes (P. Boyer and K. Myrback, eds.), New York, Academic Press, 2, 11—17 (1960).
195. Bockmühl M., Ehrhart G., Schaumann O., Liebigs Annalen, 561, 52 (1949).
196. Bolliger A., Analyst, 64, 416 (1939).
197. Booth B., Sartorelli A., Nature, Lond., 210, 104 (1966).
198. Borek E., Srinivasan P., Ann. Rev. Biochem., 35, 275 (1966).
199. Borg D., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 53, 633, 829 (1965).
200. Borg D., Biochem. Pharmacol., 14, 115 (1965).
201. Borg D., Cotzias G., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 48, 623, 643 (1962).
202. Borisy G., Taylor E., J. Cell. Biol., 34, 525, 535 (1967).
203. Borowski E., Cybulska B., Nature, Lond., 213, 1034 (1967).
204. Bosund I., Physiol. Plantarum, 13, 793 (1960).
205. Boura A., Copp F., Green A., Nature, Lond., 184, 70 (1959).
206. Boura A., Green A., Brit. J. Pharmacol., 20, 36 (1963).
207. Bovet D., Rendiconti Istituto superiore di Sanità, Rome, 10, 1161 (1947).
208. Bovet D., Bovet-Nitti F., Rendiconti Istituto superiore di Sanità, Rome, 12, 7 (1949).
209. Bovet D., Depierre F., Lestrangé Y., Compt. rend., 225, 74 (1947).
210. Bovet-Nitti F., Bovet D., Arch. int. Pharmacodyn., 96, 327 (1954).
211. Boyer P., Lardy H., Myrback K., The Enzymes, New York, Academic Press, 1959-1963.
212. Boyland E., The Biochemical Reactions of Chemical Warfare Agents, Symp. Biochem. Soc., 2, Cambridge, University Press (1947).
213. Boyland E., Wallace D., Williams D., Brit. J. Cancer, 9, 62 (1955).
214. Bradbury F., Standen H., Nature, Lond., 183, 983 (1959).
215. Branstetter M., Morton R., Biochem. J., 63, 640 (1956).
216. Brawerman G., Shapiro H., Comparative Biochemistry (M. Florkin and H. Mason, eds.), New York, Academic Press (1960).



247. Brenner S., Jacob F., Meselson M., *Nature, Lond.*, **190**, 576 (1961).
248. Bresnick E., Hitchings G., *Cancer Research*, **21**, 105 (1961).
249. Breyer B., Buchanan G., Duewell H., *J. Chem. Soc.*, 360 (1944).
250. Brian P., *J. Soc. Chem. Ind.*, **64**, 315 (1945).
251. Brian R., *Chem. and Indust.*, 1955 (1965).
252. Brink F., Pasternak J., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **32**, 211 (1948).
253. Brock T., *Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs* (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press (1966).
254. Brock T., Brock M., *Arch. Biochem. Biophys.*, **85**, 176 (1959).
255. Brockman R., Kelley G., Stutts P., Copeland V., *Nature, Lond.*, **191**, 469 (1961).
256. Brockmann H., *Forst. Chem. Org. Naturstoffe*, **18**, 1 (1960).
257. Brodie B., *J. Pharm. Pharmacol.*, **8**, 1 (1956).
258. Brodie B., *Modern Medicine*, 68 (1958).
259. Brodie B., *Enzymes and Drug Action* (J. Mongar and A. de Reuck, eds.), London, Churchill (1962).
260. Brodie B., *The Pharmacologist* (Washington), **6**, 12 (1964).
261. Brodie B., Aronow L., Axelrod J., *J. Pharmacol.*, **106**, 200 (1952).
262. Brodie B., Kurz H., Schanker L., *J. Pharmacol.*, **130**, 20 (1960).
263. Brodie B., Bufenried S., Baer J., Chenkin T., Dill W., *J. Biol. Chem.*, **158**, 705 (1945).
264. Brookes G., Harrison A., *Biochem. J.*, **87**, 5P (1963).
265. Brown A., cm. [373].
266. Brown D. J., *The Pyrimidines*, New York, Wiley (Interscience), 1962.
267. Brown D. J., Mason S., *J. Chem. Soc.*, 3443 (1956).
268. Brown G. M., *J. Biol. Chem.*, **237**, 536 (1962).
269. Brown H. D., Matzuk A., Ilves I., Peterson L., Harris S., Saret L., Egerton J., Yakstis J., Campbell W., Cuckler A., *J. Amer. Chem. Soc.*, **83**, 1764 (1961).
270. Brown H. D., Rogers E., *J. Amer. Chem. Soc.*, **72**, 1864 (1950).
271. Brown N., Hollinshead D., Kingsbury P., Malone J., *Nature, Lond.*, **194**, 379 (1962).
272. Brown P. E., *Nature, Lond.*, **213**, 363 (1967).
273. Brown W., Pearce L., *J. Exper. Med.*, **30**, 483 (1919).
274. Browning C., Cohen J., Gaunt R., Gulbransen R., *Proc. Roy. Soc., B*, **93**, 329 (1922).
275. Browning C., Gilmore W., *J. Path. Bact.*, **18**, 144 (1913).
276. Browning C., Gulbransen R., *J. Path. Bact.*, **25**, 395 (1922).
277. Browning C., Gulbransen R., Kennaway E., *J. Path. Bact.*, **23**, 106 (1919).
278. Browning C., Gulbransen R., Kennaway E., Thornton L., *Brit. Med. J.*, **i**, 73 (1917).
279. Browning C., Morgan G., Robb J., Walls L., *J. Path. Bact.*, **46**, 203 (1938).
280. Buchanan J., *Ciba Symposium on Purines*, London, Churchill, p. 233 (1957).
281. Bueding E., McKinnon J., *J. Biol. Chem.*, **215**, 495 (1955).
282. Bueding E., Mansour J., *Brit. J. Pharmacol.*, **12**, 159 (1957).
283. Bull G., Hemsworth B., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **25**, 228 (1965).
284. Burchall J., Hitchings G., *Mol. Pharmacol.*, **1**, 126 (1965).
285. Burchenal J., Lester R., Riley J., Rhoads C., *Cancer*, **1**, 399 (1948).
286. Burckhalter J., Tendick F., Jones E., Holcomb W., Rawlins A., *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 1894 (1946).
287. Burge R., Draper J., *J. Mol. Biol.*, **28**, 173 (1967).
288. Burgen A., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **25**, 4 (1965).
289. Burger A., Standridge R., Ariens E., *J. Med., Chem.*, **6**, 221 (1963).
290. Burger A., Standridge R., Stjernström N., Marchini P., *J. Med. Pharm. Chem.*, **4**, 517 (1961).
291. Burkitt D., Hutt M., Wright D., *Cancer, Philadelphia*, **18**, 399 (1965).
292. Burn J., *Brit. Med. J.*, **ii**, 691 (1950).
293. Burn J., *Brit. Med. J.*, **i**, 1623 (1961).
294. Burn J., Rand M., *J. Physiol.*, **144**, 314 (1958).
295. Burn J., Rand M., *Brit. J. Pharmacol.*, **15**, 56 (1960).
296. Burns B., Paton W., *J. Physiol.*, **115**, 41 (1951).
297. Burns J., Yü T., Dayton P., Gutman A., Brodie B., *Ann. New York Acad. Sci.*, **86**, 253 (1960).
298. Burton D., Clarke K., Gray G., *J. Chem. Soc.*, 1314 (1964).
299. Burton D., Lambie A., Ludgate J., Newbold G., Percival A., *Saggers D., Nature, Lond.*, **208**, 1166 (1965).
300. Burt E., *Ann. App. Biol.*, **32**, 247 (1945).
301. Busvine J., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med.*, **51**, 11 (1957).

272. Butler T., J. Pharmacol., **81**, 72 (1944).
273. Butler T., J. Pharmacol., **92**, 49 (1948).
274. Butterworth J., Eley D., Stone G., Biochem. J., **53**, 30 (1953).
275. Byrde R., Woodcock D., Nature, Lond., **179**, 539 (1957).
276. Cahn A., Hepp P., Berl. klin. Woch., **24**, pp. 4, 26 (1887).
277. Cahn R., Ingold C., Prelog V., Experientia, **12**, 81 (1956).
278. Cairns J., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **27**, 311 (1962).
279. Cairns J., J. Mol. Biol., **6**, 208 (1963).
280. Calabresi P., McCollum R., Welch A., Nature, Lond., **197**, 767 (1963).
281. Calderbank A., Biochem. J., **101**, 2P (1966).
282. Calvin M., Bassham J., The Photosynthesis of Carbon Compounds, New York, Benjamin Co., 1962.
283. Calvin M., Wilson K., J. Amer. Chem. Soc., **67**, 2003 (1945).
284. Campbell D., Landgrebe F., Morgen T., Lancet, i, 630 (1944).
285. Canepa F., Acta Cryst., **16**, 145 (1963).
286. Canepa F., Pauling P., Sörum H., Nature, Lond., **210**, 907 (1966).
287. di Carlo V., Nature, Lond., **213**, 831 (1967).
288. Carlyle R., Brit. J. Pharmacol., **21**, 137 (1963).
289. Carmichael J., Bell F., J. Comp. Path. Therap., **54**, 49 (1944).
290. Carpenter K., Cottrell H., deSilva W., Heywood B., Leeds W., Rivett K., Soundy M., Weed Research, **4**, 175 (1964).
291. Carpenter K., Heywood B., Nature, Lond., **200**, 28 (1963).
292. Casida J., Ann. Rev. Entomol., **8**, 39 (1963).
293. Casselton P., Nature, Lond., **204**, 93 (1964).
294. del Castillo J., Katz B., J. Physiol., **128**, 157 (1955).
295. del Castillo J., Katz B., Proc. Roy. Soc., B, **146**, 339 (1957).
296. Cavalli-Sforza L., Lederberg J., Genetics, **41**, 367 (1956).
297. Ceder O., Ryhage R., Acta. Chem. Scand., **18**, 558 (1964).
298. Cervello V., Arch. per. le Sci. med., **6**, 177 (1882).
299. Chain E., Ann. Rev. Biochem., **17**, 657 (1948).
300. Chalk A., Smith J., Nature, Lond., **174**, 802 (1954).
301. Chambers R., Chambers E., Chambers E., Explorations into the Nature of the Living Cell, Harvard, University Press, 1961.
302. Chance B., in «Free Radicals in Biological Systems» (M. Blois, et. al., ed.), New York, Academic Press (1960).
303. Chance B., Sacktor B., Arch. Biochem. Biophys., **76**, 509 (1958).
304. Chance B., Williams G., J. Biol. Chem., **217**, 429 (1955).
305. Chang T. W., Weinstein L., Science, **143**, 807 (1964).
306. Chantrenne H., Biological Structure and Function (T. Goodwin and O. Lindberg, eds.), London, Academic Press (1961).
307. Chappell J., Biochem. J., **101**, 43P (1966).
308. Chappell J., Crofts A., Biochem. J., **95**, 707 (1965).
309. Chatterjee A., Park J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **51**, 9 (1964).
310. Chaudhuri N., Montag B., Heidelberger C., Cancer Res., **18**, 318, 328 (1958).
311. Chick H., J. Hygiene, **8**, 92 (1908).
312. Childs A., Davies D., Green A., Rutland J., Brit. J. Pharmacol., **10**, 462 (1955).
313. Chmielewska J., Ciéslak J., Tetrahedron, **4**, 135 (1958).
314. Christophers S., J. Hygiene, Cambridge, **45**, 176 (1947).
315. Christopherson J., Lancet, ii, 325 (1918).
316. Cigén R., Acta Chem. Scand., **12**, 1456 (1958).
317. Cirillo V., Harsch M., Lampen J., J. Gen. Microbiol., **35**, 249 (1964).
318. Clark A. J., The Mode of Action of Drugs on Cells, London, Edward Arnold, 1933.
319. Clark A. J., Handbuch der experimentellen Pharmakologie (A. Heffter, ed.), Berlin, Springer (Erganz., **4**), 63 (1937).
320. Clark A. J., Applied Pharmacology, 7th Ed., London, Churchill, 1940.
321. Clark A. J., Raventós J., Quart. J. Exper. Physiol., **26**, 375 (1937).
322. Clark E., O'Donnell S., J. Chem. Soc., 6509 (1965).
323. Clark J., Perrin D., Quart. Rev. (Chem. Soc., London), **18**, 295 (1964).
324. Clarkson T., Rothstein A., Sutherland R., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **24**, 1 (1965).
325. Claydon D., Chemical Carcinogenesis, London, Churchill, 1962.
326. Clifford J., Rees K., Biochem. J., **102**, 65 (1967).
327. Clowes G., Keltch A., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **29**, 312 (1931).
328. Clowes G., Keltch A., Krah M., J. Pharmacol., **68**, 312 (1940).
329. Cohen N., Biological Rev., **41**, 503 (1966).
330. Cohen S., Flaks J., Barner H., Loeb M., Lichtenstein J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **44**, 1004 (1958).
331. Cohen S., Yelding K., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **54**, 521 (1965).

332. Cohn E., McMeekin T., Edsall J., Weare J., J. Amer. Chem. Soc., **56**, 2270 (1934).
333. Cohn M., Leigh J., Nature, Lond., **193**, 1037 (1962).
334. Colburn R., Maas J., Nature, Lond., **208**, 37 (1965).
335. Colebrook L., Kenny M., Lancet, **i**, 1279 (1936).
336. Collander R., Trans. Farad. Soc., **33**, 985 (1937).
337. Collander R., Acta Physiol. Scand., **13**, 363 (1947).
338. Collander R., Acta Chem. Scand., **5**, 774 (1954).
339. Collander R., Bärlund H., Acta Botan. Fenn., **11**, 1 (in German) (1933).
340. Collier H., Waterhouse P., Ann. Trop. Med. Parasit., **44**, 156 (1950).
341. Collins J., Richmond M., Nature, Lond., **195**, 142 (1962).
342. Collins R., Ellis B., Hansen S., MacKenzie H., Moualim R., Petrov V., Stephenson O., Sturgeon B., J. Pharm. Pharmacol., **4**, 693 (1952).
343. Colowick S., Kaplan N., Methods in Enzymology, New York, Academic Press, 1955.
344. Comb D., Katz S., J. Mol. Biol., **8**, 790 (1964).
345. Commission on Enzymes, Enzyme Nomenclature, Amsterdam, Elsevier, 1965.
346. Commoner B., Ternberg J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **47**, 1374 (1961).
347. Commoner B., Townsend J., Pake G., Nature, Lond., **174**, 689 (1954).
348. Connacher R., Mandel H., Biochem. Biophys. Res. Commun., **20**, 98 (1965).
349. Conney A., Burns J., Advances Pharmacol., **1**, 31 (1962).
350. Cook J., Chem. Soc., 1210 (1950).
351. Cooper P., Bacteriol. Rev., **20**, 28 (1956).
352. Cope A., Axen U., Burrows E., Weinlich J., J. Amer. Chem. Soc., **88**, 4228 (1966).
353. Corden M., Edgington L., Phytopathology, **50**, 625 (1960).
354. Corey R., Pauling L., Proc. Roy. Soc., B, **141**, 10 (1958).
355. Cornforth J., D'Arcy-Hart P., Nicholls G., Rees R., Stock J., Brit. J. Pharmacol., **10**, 73 (1955).
356. Cornforth J., Milborrow B., Ryback G., Nature, Lond., **206**, 715 (1965).
357. Cornforth J., Ryback G., Popják G., Donninger C., Schroepfer G., Biochem. Biophys. Res. Commun., **9**, 371 (1962).
358. Corrodi H., Hardegger E., Helv. Chim. Acta, **38**, 2038 (1955).
359. Cottrell G., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **29**, 63 (1967).
360. Council on Pharmacy and Chemistry, U.S.A., J. Amer. Med. Ass., **107**, 1132 (1936).
361. Cowles P., Klotz I., J. Bact., **56**, 277 (1948).
362. Crabtree D., Robinson W., Perry V., Pest Control., **32**, 36 (1964).
363. Crafts A., The Physiology and Biochemistry of Herbicides (L. J. Audus, ed.), New York, Academic Press (1960).
364. Craig J., Tate M., Warwick G., Rogers W., J. Med. Pharm. Chem., **2**, 659, 669 (1960).
365. Cramer F., Martin F., Chem. Ber., **91**, 308 (1958).
366. Crane M., J. Pharmacol., **18**, 319 (1921).
367. Crane R., Wilson T., J. Appl. Physiol., **12**, 145 (1958).
368. Crathorn A., Hunter G., Biochem. J., **69**, 47P (1958).
369. Crosley A., Ronquillo L., Strickland W., Alexander F., Ann. Internal. Med., **56**, 241 (1962).
370. Crowther A., Levi A., Brit. J. Pharmacol., **8**, 93 (1953).
371. Cruess W., Richert P., J. Bact., **17**, 363 (1929).
372. Cruickshank I., Ann. Rev. Phytopath., **1**, 351 (1963).
373. Crum Brown A., Fraser T., Trans. Roy. Soc. Edinburgh, **25**, 151 693 (1869).
374. Cullen S., Gross E., Science, **113**, 580 (1951).
375. Culvenor C., Dann A., Dick A., Nature, Lond., **195**, 570 (1962).
376. Culvenor C., Ham N., Chem. Comm. (Chem. Soc., London), 537 (1966).
377. Cummins C., Harris H., J. Gen. Microbiol., **14**, 583 (1956).
378. Cummins C., Harris H., J. Gen. Microbiol., **18**, 173 (1958).
379. Curd F., Davey D., Nature, Lond., **163**, 89 (1949).
380. Curd F., Davey D., Rose F., Ann. Trop. Med. Parasit., **39**, 208 (1945).
381. Curran G., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **88**, 101 (1955).
382. Curtis D., Ryall R., Exper. Brain Research, **2**, 81 (1966).
383. Curtis D., Ryall R., Watkins J., Proc. 2nd Internat. Pharmacol. Meeting (Prague), Oxford, Pergamon Press (1964).
384. Curtis D., Watkins J., Inhibition in the Nervous System and Gamma-aminobutyric acid (Symposium), Oxford, Pergamon Press, 1960.
385. Curtis D., Watkins J., Pharmacol. Rev., **17**, 347 (1966).
386. Cushny A., Biological Relation of Optically Isomeric Substances, London, Bailière, 1926.

387. Cymerman-Craig J., Rubbo S., Willis D., Edgar J., *Nature*, Lond., 176, 35 (1955).
388. Cymerman-Craig J., Willis D., *J. Chem. Soc.*, 4315 (1955).
389. Dainton F., *Chain Reactions*, London, Methuen, 1966.
390. Dalal R., Gots J., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 20, 509 (1965).
391. Dale H., *J. Pharmacol.*, 6, 147 (1914).
392. Dale H., *J. Physiol.*, 80, 10P (1933).
393. Dale H., Feldberg W., Vogt M., *J. Physiol.*, 86, 353 (1936).
394. Danielli J., *Proc. Roy. Soc., B*, 122, 155 (1937).
395. Danielli J., Davson H., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 5, 495 (1934).
396. Das H., Goldstein A., Kanner L., *Mol. Pharmacol.*, 2, 158 (1966).
397. Datta S., Rabin B., *Biochim. et Biophys. Acta*, 19, 572 (1956).
398. Dauben W., Pitzer K., *Steric Effects in Organic Chemistry* (M. Newman, ed.), New York, Wiley (1956).
399. Daudel P., Daudel R., *Chemical Carcinogenesis and Molecular Biology*, New York, Wiley-Interscience, 1966.
400. Davey K., *Advances Insect Physiol.*, 2, 219 (1964).
401. Davies C., *Ion Association*, London, Butterworths, 1962.
402. Davies D., Green A., *Adv. Enzymol.*, 20, 283 (1958).
403. Davies G., *Chem. and Eng. News*, 34 (1957).
404. Davies G., Driver G., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 12, 434 (1957).
405. Davies G., Lowe J., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 27, 107 (1966).
406. Davies J., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, 51, 659 (1964).
407. Davies J., Gilbert W., Gorini L., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, 51, 883 (1964).
408. Davies J., Rideal E., *Interfacial Phenomena*, London, Academic Press, 1961.
409. Davies W., Mercer E., Goodwin T., *Phytochemistry*, 4, 741 (1965).
410. Davis B., Dubos R., *J. Exper. Med.*, 86, 245 (1947).
411. Davis V., Brown H., Huff J., Cashaw J., *J. Lab. Clin. Med.*, 69, 132 (1967).
412. Davson H., Danielli J., *The Permeability of, Natural Membranes*, 2nd Ed., Cambridge, University Press, 1952.
413. Dawes G., *Brit. J. Pharmacol.*, 1, 90 (1946).
414. Dean A., *Proc. Roy. Soc., B*, 153, 329 (1960).
415. De Bruyn P., Robertson R., Farr R., *Anat. Record*, 108, 279 (1950).
416. De Eds F., Eddy C., Thomas J., *J. Pharmacol.*, 64, 250 (1938).
417. De Ley J., Docky R., *Biochim. Biophys. Acta*, 40, 277 (1960).
418. Demel R., van Deenen L., Kinsky S., *J. Biol. Chem.*, 240, 2749 (1965).
419. Dénes G., Polgár L., *Nature*, Lond., 185, 386 (1960).
420. Deskin W., *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 5680 (1958).
421. De Stevens G., *Diuretics*, New York, Academic Press, 1963.
422. Dewhurst W., Marley E., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 25, 705 (1965).
423. Dierick G., *Tijdschr. Pl. Ziekt. (per Chem. Abs.)*, 1944, 38, 5040 (1943).
424. Dill W., Fiskens R., Reutner T., Weston J., Glazko A., *Antibiot. and Chemother.*, 7, 99 (1957).
425. Diamond A., Heuberger J., Horsfall J., *Phytopathology*, 33, 1095 (1943).
426. Diamond A., Horsfall J., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 10, 257 (1959).
427. Dittmer K., *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 1205 (1949).
428. Dittmer K., du Vigneaud V., *Science*, 100, 129 (1944).
429. Dixon M., *Biochem. J.*, 100, 41P (1966).
430. Dixon M., Webb E., *Enzymes*, London, Longmans, 1958. (М. Диксон, Э. Уэбб; Ферменты, ИЛ, М., 1961.)
431. Djerassi C., *Optical Rotatory Dispersion*, New York, McGraw-Hill, 1960.
432. Djordjevic B., Szybalki W., *J. Exper. Med.*, 112, 509 (1960).
433. Dobbie H., Kermack W., *Biochem. J.*, 59, 246 (1955).
434. Dodd M., *J. Pharmacol.*, 86, 311 (1946).
435. Doherty D., Shapira R., Burnett W., *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 5667 (1957).
436. Dolin M., in *«The Bacteria»*, I (Gunsalus and R. Stanier, eds.), New York, Academic Press, 2, 425 (1961).
437. Doluizio J., Martin A., *J. Med. Chem.*, 6, 16, 20 (1963).
438. Domack G., *Deutsch. med. Woch.*, 61, 250 (1935).
439. Donald C., Passey B., Swaby R., *J. Gen. Microbiol.*, 7, 211 (1952).
440. Donnelly R., Turner P., Sowry G., *Lancet*, i, 245 (1962).
441. Douglas C., Haldane J. S., Haldane J. B. S., *J. Physiol.*, 44, 275 (1912).
442. Dreser H., *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 76, 306 (1899).
443. Drew R., *Nature*, Lond., 179, 1251 (1957).
444. Druckrey H., *Klin. Woch.*, 784 (1955).
445. Drzeniek R., *Nature*, Lond., 211, 1205 (1966).

446. Dubos R., *Man Adapting*, New Haven, Yale University Press, 1965.
447. Dunitz J., *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 995 (1952).
448. de Duve C., in «Lysosomes» (A. de Reuk and M. Cameron, eds.), (A Ciba Foundation Symposium), London, Churchill, 1 (1963).
449. Eagle H., *J. Pharmacol.*, **66**, 10, 423, 436 (1939).
450. Eagle H., *J. Pharmacol.*, **85**, 265 (1945).
451. Eagle H., *Pharmacol. Rev.*, **3**, 107 (1951).
452. Easson L., Stedman E., *Biochem. J.*, **27**, 1257 (1933).
453. Ebeling W., Wagner R., *J. Econ. Entomol.*, **52**, 190 (1959).
454. Eccles J., *The Physiology of Nerve Cells*, Baltimore, Johns Hopkins Press, 193—195, 1957. (Дж. Эклс, Физиология нервных клеток, ИЛ, М., 1959.)
455. Eccles J., Katz B., Kuffler S., *J. Neurophysiol.*, **5**, 211 (1942).
456. Edgington L., Walton G., Miller P., *Science*, **153**, 307 (1966).
457. Edlbacher S., Baur H., Becker M., *Z. physiol. Chem.*, **265**, 61 (1940).
458. Edsall J., Martin R., Hollingworth B., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **44**, 505 (1958).
459. Edson E., Sanderson D., Noakes D., *World Rev. Pest Control*, **4**, 36 (1966); *ibid.*, **5**, 143 (1966).
460. Eggerth A., *J. Exper. Med.*, **50**, 299 (1929).
461. von Ehrenstein G., Lipmann F., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **47**, 941 (1961).
462. Ehrlich P., *Proc. Roy. Soc. Lond., B*, **66**, 424 (1900).
463. Ehrlich P., *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **42**, 17 (1909).
464. Ehrlich P., *Theorie und Praxis des Chemotherapie*, Leipzig, Klinkhardt, 1911.
465. Ehrlich P., *см.* [149].
466. Ehrlich P., Berthelm A., *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **45**, 756 (1912).
467. Ehrlich P., Hata S., *Die experimentelle Chemotherapie der Spirillozen*, Berlin, Springer, 1910.
468. Ehrlich P., Morgenroth J., *Studies in Immunity*, New York, Wiley, **24**, 47 (translated from a paper by these authors in *Berl. klin. Woch.*, 1910, 47, 682) (1910).
469. Ehrlich P., Shiga K., *Berl. klin. Woch.*, **41**, 329 (1904).
470. Einhorn A., *Deutsch. med. Woch.*, **31**, 1668 (1905).
471. Elderfield R., *Chem. and Eng. News.*, **24**, 2598 (1946).
472. Eliel E., *Stereochemistry of Carbon Compounds*, New York, McGraw-Hill, 1962.
473. Elion G., Callahan S., Rundles R., Hitchings G., *Cancer Res.*, **23**, 1207 (1963).
474. Elion G., Hitchings G., *Adv. in Chemother.*, **2**, 91 (1965).
475. Elion G., Kovensky A., Hitchings G., Metz E., Rundles R., *Biochem. Pharmacol.*, **15**, 863 (1966).
476. Ellenbroek B., van Rossum J., *Arch. int. Pharmacodyn.*, **125**, 216 (1960).
477. Elliott W. H., *Biochem. J.*, **86**, 562 (1963).
478. Elsager E., Worth D., *Nature, Lond.*, **206**, 630 (1965).
479. Emerson G., *Fed. Proc.*, **6**, 406 (1947).
480. Ennor A., Rosenberg H., Rossiter R., Beatty I., Gaffney T., *Biochem. J.*, **75**, 179 (1960).
481. Ephrussi B., Héretier P., Hottinguer H., *Ann. Inst. Pasteur*, **77**, 64 (1949).
482. Epstein F., Whittam R., *Biochem. J.*, **99**, 232 (1966).
483. Erlemeyer H., Bäumlér J., Roth W., *Helv. Chim. Acta*, **36**, 941 (1953).
484. Ernster L., Dallner G., Azzone G., *J. Biol. Chem.*, **238**, 1124 (1963).
485. Ernster L., Jalling O., Löw H., Lindberg O., *Exper. Cell Res. (Suppl.)*, **3**, 124 (1955).
486. von Euler H., Heller L., *Comparative Endocrinology*, 1. London, Academic Press, 1963.
487. Eusebi A., Cerecedo L., *Fed. Proc.*, **9**, 169 (1950).
488. Evans D., Fuller A., Walker J., *Lancet*, **ii**, 523 (1944).
489. Evans P., Clarke C., *Brit. Med. Bull.*, **17**, 234 (1961).
490. Ewins A., Ashley J., Barber H., Newbery G., Self A., *J. Chem. Soc.*, 103 (1942).
491. Exer B., *Experientia*, **14**, 135 (1958).
492. Eyles D., Coleman N., *Antibiot. and Chemother.*, **3**, 483 (1953).
493. Fabro S., Smith R., Williams R., *Nature, Lond.*, **208**, 1208 (1965).
494. Faigle J., Keberle H., Riess W., Schmid K., *Experientia*, **18**, 1 (1962).
495. Fairbrother R., Garrett G., *Brit. Med. J.*, **ii**, 1191 (1960).
496. Fairley N., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **38**, 311 (1945).
497. Fairley N., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **40**, 105 (1946).
498. Falaschi A., Kornberg A., *Fed. Proc.*, **23**, 940 (1964).
499. Falco E., Goodwin L., Hitchings G., Rollo I., Russell P., *Brit. J. Pharmacol.*, **6**, 185 (1951).
500. Falk H., Kotin P., Lee S., Nathan A., *J. Nat. Cancer Inst.*, **28**, 699 (1962).

501. Fallab S., Erlenmeyer H., *Helv. Chim. Acta*, **36**, 6 (1953).
502. Farber S., *Blood*, **7**, 97 (1952).
503. Farley T., Strong F., Bydalek T., *J. Amer. Chem. Soc.*, **87**, 3501 (1965).
504. Fastier F., *Brit. J. Pharmacol.*, **4**, 315 (1949).
505. Fastier F., *Ann. Rev. Pharmacol.*, **4**, 351 (1964).
506. Fastier F., Reed C., *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 417 (1952).
507. Feitelson B., Gunner J., Moualim R., Petrow V., Stephen-son O., Underhill S., *J. Pharm. Pharmacol.*, **3**, 149 (1951).
508. Feldberg W., in «Metabolism of the Nervous System», D. Richter (ed.). London, Pergamon Press, p. 499 (1957).
509. Feldstein A., Hoagland H., Freeman H., Williamson D., *Life Sciences (Oxford)*, **6**, 53 (1967).
510. Ferguson J., *Proc. Roy. Soc., B*, **127**, 387 (1939).
511. Ferguson J., *Colloques internationaux du Centre nationale de la Recherche scientifique, Paris*, N° **26**, Mechanisme de la Narcose, 25 (1951).
512. Ferguson J., Hawkins S., Doxey D., *Nature, Lond.*, **165**, 1021 (1950).
513. Ferguson J., Pirie H., *Ann. App. Biol.*, **35**, 532 (1948).
514. Ferguson W., Lewis A., Watson S., *J. Agric. Science*, **33**, 44 (1943).
515. Ferone R., Hitchings G., *J. Protozool.*, **13**, 504 (1966).
516. Fieser L., Fieser M., *J. Amer. Chem. Soc.*, **57**, 491 (1935).
517. Fildes P., *Lancet*, **i**, 955 (1940).
518. Fildes P., *Brit. J. Exper. Path.*, **21**, 67 (1940).
519. Fischer E., von Mering J., *Therapie der Gegenwart*, **44**, 97 (1903).
520. Fischl V., Kotrba J., Singer E., *Zeits. für Hyg.*, **116**, 69 (1934).
521. Fleming A., *Brit. J. Exper. Path.*, **10**, 226 (1929).
522. Fletcher R., Hirschfeld J., Forbes M., *Nature, Lond.*, **207**, 664 (1965).
523. Florey H., Abraham E., Chain E., Fletcher C., Gardner A., Heatley N., Jennings M., Orr-Ewing J., Sanders A., *Lancet*, **ii**, 226 (1941); *ibid.*, **ii**, 177.
524. Florey H., Chain E., Heatley N., Jennings M., Sanders A., Abraham E., Florey M., *Antibiotics*, Oxford, University Press, 1949.
525. Florkin M., Mason H., *Comparative Biochemistry* (7 vols), New York, Academic Press, 1960—1964.
526. Fodor G., *The Alkaloids* (R. Manske and H. Holmes, eds.), **6**, 145, New York, Academic Press (1960).
527. Foley E., Hermann F., Lee S., *J. Invest. Dermatol.*, **8**, 5 (1947).
528. Foster M., Jones K., Woods D., *Biochem. J.*, **80**, 519 (1961).
529. Fourneau E., Bovet D., Bovet F., Montezin G., *Bull. Soc. Chim. biol.*, **26**, 134, 516 (1944).
530. Fouts J., *Fed. Proc.*, **21**, 1107 (1962).
531. Fowden L., Neale S., Tristram H., *Nature, Lond.*, **199**, 35 (1963).
532. Fox H., *Trans. New York Acad. Sci.*, **15**, 234 (1953).
533. Francis J., *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 189 (1952).
534. Frank H., Wen W.-Y., *Discuss. Farad. Soc.*, **24**, 133 (1957).
535. Franke E., Roehl W., first recorded by E. Franke, in *Therapeutische Versuche bei Trypanosomenkrankung*, Jena; later by 1905; C. Browning, *Brit. Med. J.* **ii**, 1405 and P. Ehrlich, *Berl. klin. Woch.*, **44**, 233, 341 (1907).
536. Franklin T., *Biochem. J.*, **87**, 449 (1963).
537. Frenkel J., Hitchings G., *Antibiot. and Chemother.*, **7**, 630 (1957).
538. Frenster J., *Nature, Lond.*, **208**, 894 (1965).
539. Fridborg K., Kannan K., Liljas A., Lundin J., Strandberg B., Strandberg R., Tilander B., Wirén G., *J. Biol.*, **25**, 505 (1967).
540. Friend J., Olsson R., *Nature, Lond.*, **214**, 942 (1967).
541. Friess S., Baldrige H., *J. Amer. Chem. Soc.*, **78**, 2482 (1956).
542. Fry B., *J. Gen. Microbiol.*, **16**, 341 (1957).
543. Fujita T., Iwasa J., Hansch C., *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 5175 (1964).
544. Fukami J., *Bull. Nat. Inst. Agr. Science, Japan (Nogyo Gijutsu Kenkyusho Hokoku)*, **Ser. C**, N° 13, 33 (1961).
545. Fuller A., *Biochem. J.*, **36**, 548 (1942).
546. Fuller W., Waring M., *Ber. Bunsen physik. Chem.*, **68**, 805 (1964).
547. Fulton J., Grant P., *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **50**, 381 (1956).
548. Furchgott R., *Pharmacol. Rev.*, **11**, 429 (1959).
549. Furchgott R., *Ann. Rev. Pharmacol.*, **4**, 21 (1964).
550. Gaddum J., *J. Physiol.*, **61**, 141 (1926).
551. Gaddum J., *Proc. Roy. Soc. Med.*, **29**, 1373 (1936).
552. Gaddum J., *Pharmacology*, 5th Ed., Oxford, University Press, 1959.
553. Gaddum J., *Nature, Lond.*, **197**, 741 (1963).
554. Gage J., *Biochem. J.*, **426** (1953).
555. Gale E., *Advances Enzymol.*, **6**, 1 (1946).

556. Gale E., J. Gen. Microbiol., 1, 53 (1947).
557. Gale E., Synthesis and Organization in the Bacterial Cell, New York, Wiley, 1959.
558. Gale E., Folkes J., Biochem. J., 53, 493, 730 (1953).
559. Gale E., Rodwell A., J. Gen. Microbiol., 3, 127 (1949).
560. Gale E., Shepherd C., Folkes J., Nature, Lond., 182, 592 (1958).
561. Gale E., Taylor E. J. Gen. Microbiol., 1, 77 (1947).
562. Gardner B., Mason S., Biopolymers, 5, 79 (1967).
563. Garrett J., Oswald W., Moreira M., Brit. J. Pharmacol., 18, 49 (1962).
564. Gavaudan P., Dodé M., Poussel H., Mem. Services chim. Etat (Paris), 31, 384 (1944).
565. Gelboin H., Wortham J., Wilson R., Nature, Lond., 214, 281 (1967).
566. Gelmo P., J. prakt. Chem., 77, 369 (1908).
567. Gerhartz H., Der Internist., 1, 278 (1960).
568. Germar B., Z. angew. Ent., 22, 603 (1936).
569. Gershenfeld L., Milanick C., Amer. J. Pharm., 113, 306 (1941).
570. Ghirelli F., in «Oxygenases» (O. Hayaishi, ed.), New York, Academic Press (1962).
571. Gibson F., Biochem. J., 90, 256 (1964).
572. Gilby A., Few A., McQuillan K., Biochim. Biophys. Acta, 29, 21 (1958).
573. Giles C., MacEwan T., Nakhwa S., Smith D., J. Chem. Soc., 3973 (1960).
574. Gill E., Proc. Roy. Soc., B, 150, 381 (1959).
575. Gill E., Progress Medicinal Chem., 4, 39 (1965).
576. Gillespie L., Oates J., Crout J., Sjoerdsma A., Circulation, 25, 281 (1962).
577. Gillette J., Ann. New York Acad. Sci., Art. 1, 1 (1965).
578. Gillette J., Advances Pharmacol., 4, 219 (1966).
579. Gilligan D., Plummer N., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 53, 142 (1943).
580. Gilmour D., Biochemistry of Insects, New York, Academic Press, 1961.
581. Ginnings P., Baum R., J. Amer. Chem. Soc., 59, 1111 (1937).
582. Glöge H., Lüllmann H., Mutschler E., Brit. J. Pharmacol. Chemother., 27, 185 (1966).
583. Gönner R., Bull. World Health Org., 25, 702 (1961).
584. Goksøyr J., Nature, Lond., 175, 820; Physiol. Plantarum, 8, 719 (1955).
585. Goldacre R., Symp. Soc. Exp. Biol., 6, 128 (1952).
586. Goldacre R., Lovell A., Ross W., Nature, Lond., 163, 667 (1949).
587. Goldacre R., Phillips J., J. Chem. Soc., 1724 (1949).
588. Goldstein A., Pharmacol. Rev., 1, 102 (1949).
589. Good N., Plant Physiol., 36, 788 (1961).
590. Goodman L., Gilman A., The Pharmacological Basis of Therapeutics, 3rd Ed., New York, The Macmillan Company, 1965.
591. Goodson J., Henry T., MacFie J., Biochem. J., 24, 874 (1930).
592. Goodwin T. (ed.), Aspects of Insect Biochemistry (Biochem. Soc. Symp., 25) (1965).
593. Goodwin T. (ed.), Biochemistry of Chloroplasts, London, Academic Press (1966).
594. Goodwin T., Lindberg O. (eds.), Biological Structure and Function, London, Academic Press (1961).
595. Goshorn R., Degering E., J. Amer. Pharm. Ass., 27, 865 (1938).
596. Goto T., Kishi Y., Takahashi S., Hirata V., Tetrahed. Letters, 779, 1964.
597. Gottlieb D., Antibiotics (Vol. I, Mechanism of Action), New York, Springer, 1967.
598. Gottlieb R., Arch. exper. Path. Pharmacol., 97, 113 (1923).
599. Gould G., Hitchins A., Nature, Lond., 197, 622 (1963).
600. Gould J., Nature, Lond., 180, 282 (1957).
601. Gourevitch A., Pursiano T., Lein J., Nature, Lond., 195, 496 (1962).
602. Graham J., Progress Medicinal Chem., 2, 132 (1962).
603. Graham J., Al Katib H., Brit. J. Pharmacol. Chemother., 28, 1 (1966).
604. Graham-Smith G., J. Hyg., Cambridge, 18, 1 (1919).
605. Grant J., Klyne W. (eds.), Steric Aspects of the Chemistry and Biochemistry of Natural Products (Biochem. Soc. Symp., 19), Cambridge, University Press (1960).
606. Grant P., Bowman I., (1966), personal communication.
607. Grant P., Sargent J., Biochem. J., 76, 229 (1960).
608. Grant P., Sargent J., Ryley J., Biochem. J., 81, 200 (1961).
609. Greathouse G., Block S., Kovack E., Barnes D., Byron C., Long G., Gerber D., McLenny J., Research on Chemical Compounds for Inhibition of Fungi, U.S. Corps of Engineers, Fort Belvoir, Virginia (1954).
610. Green A., Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry, 4th Ed., 1, 39 (1937).
611. Greenberg G., Ciba Symposium on Purines, London, Churchill, 204 (1957).
612. Greenberg J., J. Pharmacol., 97, 484 (1949).
613. Greengard O., McIlwain H., Biochem. J., 61, 61 (1955).

614. Greenham C., *Planta*, **69**, 150 (1966).  
615. Greenstein J., *Biochemistry of Cancer*, New York, Academic Press, 1954.  
616. Griffin M., Brown G., *J. Biol. Chem.*, **239**, 310 (1964).  
617. Grisbach H., *Angew. Chem.*, **68**, 554 (1956).  
618. Grunwald E., Ralph E., *J. Amer. Chem. Soc.*, **89**, 4405 (1967).  
619. Gurd F., Goodman D., *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 670 (1952).  
620. Gurnani S., Mistry S., Johnson B., *Biochem. Biophys. Acta*, **38**, 187 (1960).  
621. Guttman P., Ehrlich P., *Berl. klin. Woch.*, **28**, 953 (1891).  
622. Gysin H., *Chem. and Ind.*, 1393 (1962).  
623. Haagen-Smit A., Went F., *Proc. k. ned. Akad. Wetenschap.*, **38**, 852 (1935).  
624. Haddow A., *Nature, Lond.*, **191**, 430 (1961).  
625. Haddow A., Harris R., Kon G., Roe E., *Proc. Roy. Soc., B*, **241**, 147 (1948).  
626. Haddow A., Kon G., Ross W., *Nature, Lond.*, **162**, 824 (1948).  
627. Haddow A., de Lamirande G., Bergel F., Bray R., Gilbert D., *Nature, Lond.*, **182**, 1144 (1958).  
628. Haddow A., Timmis G., Brown S., *Nature, Lond.*, **182**, 1164 (1958).  
629. Haeleley W., Hürlimann A., Thoenen H., *Brit. J. Pharmacol.*, **26**, 172 (1966).  
630. Hagiwara S., Nakajima S., *Science*, **149**, 1254 (1965).  
631. Hahn F., Wisseman C., Hopps H., *J. Bact.*, **67**, 674 (1954).  
632. Hahn P., Bale W., Ross J., Hettig R., Whipple G., *Science*, **92**, 131 (1940).  
633. Haldane J. B. S., *Enzymes*, London, Longmans, 1930.  
634. Haldar D., Freeman K., Work T., *Nature, Lond.*, **211**, 9 (1966).  
635. Hall G., *J. Amer. Chem. Soc.*, **71**, 2691 (1949).  
636. Hall R., Robins M., Stasiuk L., Thedford R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**, 2614 (1966).  
637. Hall S. (ed.), *New Approaches to Pest Control and Eradication*, Washington, American Chemical Society (1963).  
638. Hamilton J., Szkolnik M., Sondheimer E., *Science*, **123**, 1175 (1956).  
639. Hamilton L., Fuller W., Reich E., *Nature, Lond.*, **198**, 538 (1963).  
640. Hamilton T., Moore R., Rumsey A., Means A., Schrank A., *Nature, Lond.*, **208**, 1180 (1965).  
641. Hammett L., *Chem. Rev.*, **16**, 67 (1935).  
642. Hammett L., *Physical Organic Chemistry*, New York, McGraw-Hill, 1940.  
643. Hamré D., Bernstein J., Donovan R., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **73**, 275 (1950).  
644. Hancock R., *J. Gen. Microbiol.*, **28**, 503 (1962).  
645. Hancock R., Fitz-James P., *J. Bact.*, **87**, 1044 (1964).  
646. Hancock R., Park J., *Nature, Lond.*, **181**, 1050 (1958).  
647. Hanson V., Sjöstrand F., *Science*, **134**, 1434 (1961).  
648. Hardman H., *Circulation Research*, **10**, 598 (1962).  
649. Harman D., *Radiation Res.*, **16**, 753 (1962).  
650. Harold F., Sylvan S., *J. Bact.*, **86**, 222 (1963).  
651. Harris E., *Transport and Accumulation in Biological Systems*, London, Butterworths, 1960.  
652. Harris J., Sanger F., Naughton M., *Arch. Biochem. Biophys.*, **65**, 427 (1956).  
653. Hartley B., Kilby B., *Biochem. J.*, **50**, 672 (1952).  
654. Hartley H., Raikes H., *Trans. Farad. Soc.*, **23**, 393 (1927).  
655. Hassell C., *Experientia*, **6**, 462 (1950).  
656. Hassell C., in «Progress in Organic Chemistry» (J. Cook, ed.), **4**, 115 (1958).  
657. Hasskó A., *Z. Hyg. infek. Krank.*, **116**, 669 (1935).  
658. Hata A., Kitasato Arch. *Exper. Med.*, **9**, 1 (1932).  
659. Hawking F., Sen A., *Brit. J. Pharmacol.*, **15**, 567 (1960).  
660. Hawking F., Sewell P., Thurston J., *Brit. J. Pharmacol.*, **5**, 217 (1950).  
661. Hawkins C., Perrin D., *J. Chem. Soc.*, 1351 (1962).  
662. Haxo F., Blinks L., *J. Gen. Physiol.*, **33**, 389 (1950).  
663. Heath D., *J. Chem. Soc.*, 3796 (1956).  
664. Heath D., *Organophosphorus Poisons*, Oxford, Pergamon Press, 1961.  
665. Heathcote A., Nassau E., *Lancet*, **i**, 1255 (1951).  
666. Hecht G., *Arch. exper. Path. Pharmacol.*, **183**, 87 (1936).  
667. Heller J., Smith E., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **54**, 1621 (1965).  
668. Hemmerich P., Veeger C., Wood H., *Angew. Chem.*, **77**, 1 (1965).  
669. Henning U., Yanofsky C., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **48**, 183 (1961).  
670. Hershey A., Chase M., *J. Gen. Physiol.*, **36**, 39 (1952).  
671. Hertting G., Axelrod J., *Nature, Lond.*, **192**, 172 (1961).



672. Hewitt R., Kushner S., Stewart H., White E., Wallace W., Subbarow Y., *J. Lab. Clin. Med.*, **32**, 1314 (1947).
673. Hey P., *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 117 (1952).
674. Heymann B., *Z. angew. Chem.*, **37**, 585 (1924).
675. Heymann B., *Klin. Woch.*, **7**, 1305 (1928).
676. van Heyningen W., *Bacterial Toxins*, Oxford, Blackwell, 1950.
677. van Heyningen W., Gladstone G., *Brit. J. Exper. Path.*, **34**, 221 (1953).
678. Higashi Y., Strominger J., Sweeley C., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **57**, 1878 (1967).
679. Hill L., *J. Gen. Microbiol.*, **44**, 419 (1966).
680. Hill-Cottingham D., Lloyd-Jones C., *Nature, Lond.*, **189**, 312 (1961).
681. Hille B., *Nature, Lond.*, **210**, 1220 (1966).
682. Hiller S., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **24**, 427 (1927).
683. Hilton J., Ard J., Jansen L., Gentner W., *Weeds*, **7**, 381 (1959).
684. Himmelweit F., *The Collected Papers of Paul Ehrlich*, London, Pergamon Press, 1957.
685. Hinshelwood C., *Chemical Kinetics of the Bacterial Cell*, Oxford, Clarendon Press, 1946.
686. Hinshelwood C., *Chem. and Indust.*, 1050 (1964).
687. Hinton J., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **20**, 319 (1963).
688. Hirsch J., *Science*, **96**, 1942 (1942).
689. Hitchings G., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **46**, 467 (1952).
690. Hitchings G., Burchall J., *Advances Enzymol.*, **27**, 417 (1965).
691. Hitchings G., Elion G., *Cancer Chemotherapy*, 26 (1967).
692. Hoagland M., Zamecnik P., Stevenson M., *Biochim. et Biophys. Acta*, **24**, 215 (1957).
693. Hoare D., Work E., *Biochem. J.*, **65**, 441 (1957).
694. Hobbiger F., *Chem. and Indust.*, 415 (1954).
695. Hobbiger F., *Brit. J. Pharmacol.*, **10**, 356 (1955).
696. Hobbiger F., Sadler P., *Brit. J. Pharmacol.*, **14**, 192 (1959).
697. Hochster R., Quastel J. (eds.), *Metabolic Inhibitors*, vols I and 2, New York, Academic Press (1963).
698. Hodgkin A., *Proc. Roy. Soc., B*, **148**, 1 (1958).
699. Hodgkin A., *The Conduction of the Nervous Impulse*, Liverpool, University Press, 1964. (А. Ходжкин, Нервный импульс, изд-во «Мир», М., 1965.)
700. Hodgkin A., Huxley A., *J. Physiol.*, **117**, 500 (1952).
701. Hodgkin A., Katz B., *J. Physiol.*, **108**, 37 (1949).
702. Hodgson E., Casida J., *J. Agric. Food Chem.*, **10**, 208, 370 (1962).
703. Höber R., *Physical Chemistry of Cells and Tissues*, Philadelphia, Blakiston Co., 1945.
704. Hof T., Luijten J., *Timber Technology*, **67**, 83 (1959).
705. Hoffman C., Schweitzer T., Dalby G., *Food Research*, **4**, 539 (1939).
706. Hoffman C., Schweitzer T., Dalby G., *J. Amer. Chem. Soc.*, **62**, 988 (1940).
707. Hoffman C., Schweitzer T., Dalby G., *Indust. Eng. Chem.*, **33**, 749 (1941).
708. Hoffman C., Schweitzer T., Dalby G., *J. Amer. Pharm. Ass.*, **31**, 97 (1942).
709. Hoffmann C., McGahan J., Sweetser P., *Nature, Lond.*, **202**, 4932 (1964).
710. Hoffmann K., Finn F., Haas W., Smithers M., Wolman Y., Yanaiharu N., *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 834 (1963).
711. Hogben C., Schanker L., Tocco D., Brodie B., *J. Pharmacol.*, **120**, 540 (1957).
712. Hogben C., Tocco D., Brodie B., Schanker L., *J. Pharmacol.*, **125**, 275 (1959).
713. Hokin L., Hokin M., *Ann. Rev. Biochem.*, **32**, 553 (1963).
714. Holan G., *Nature, Lond.*, **206**, 311 (1965).
715. Holley R., *Science*, **117**, 23 (1953).
716. Holley R., Apgar J., Everett G., Madison J., Marquisee M., Merrill S., Penswick J., Zamir A., *Science*, **147**, 1462 (1965).
717. Holly K., in *The Physiology and Biochemistry of Herbicides* (L. Audus, ed.), New York, Academic Press (1964).
718. Holman B., in *Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry*, 4th Ed., **5**, 263 (1941).
719. Holmes R., Robins E., *Brit. J. Pharmacol.*, **10**, 490 (1955).
720. Holton P., Ing H., *Brit. J. Pharmacol.*, **4**, 190 (1949).
721. Homer R., Mees G., Tomlinson T., *J. Sci. Food Agric.*, **309** (1960).
722. Horn D., Middleton E., Wunderlich J., *Chemical Commun.*, **339** (1966).

723. Horowitz J., Chargaff E., *Nature*, Lond., **184**, 1213 (1959).
724. Horsfall J., in «Principles of Fungicidal Actions», Walton, U.S.A., *Chronica Botanica Co.*, 1956.
725. Horsfall J., Zentmyer G., *Phytopathology*, **32**, 22 (1942).
726. Hotchkiss R., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **16**, 457 (1951).
727. Hotchkiss R., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **45** (Supp. 2), 1 (1955).
728. Huber R., Hoppe W., *Chem. Ber.*, **98**, 2403 (1965).
729. Huebner R., Lane W., Welch A., Calabresi P., McCollum R., Prusoff W., *Science*, **142**, 488 (1963).
730. Hughes D., *J. Gen. Microbiol.*, **29**, 39 (1962).
731. Hultin T., Arrhenius E., Löw H., Magee P., *Biochem. J.*, **76**, 109 (1960).
732. Hunt R., Taveau R., *Bull. Hyg. Lab.*, U.S. Treasury № 73 (1911).
733. Hunter F., Lowry O., *Pharmacol. Rev.*, **8**, 89 (1956).
734. Hurly M., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**, 410, 412 (1959).
735. Hurwitz C., Doppel H., Rosano C., *J. Gen. Microbiol.*, **35**, 459 (1964).
736. Hurwitz J., Furch J., Malamy M., Alexander M., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, **48**, 1222 (1962).
737. Hutchings B., in *Ciba Symp. «Chemistry and Biology of Purines»*, London, Churchill (1957).
738. Hutchinson R., *Biochem. J.*, **99**, 23P (1966).
739. Hutner S., *Science*, **110**, 548 (1949).
740. Iball J., *Nature*, Lond., **201**, 916 (1964).
741. Ikeda M., Suzuki M., Djerassi C., *Tetrahedr. Letters*, 3745 (1967).
742. Imhoffen H., in «Progress in Organic Chemistry» (J. Cook, ed.), **2**, 131 (1953).
743. Ing H., *Physiol. Rev.*, **16**, 527 (1936).
744. Ing H., *Science*, **109**, 264 (1949).
745. Ing H., in «Pharmaceutical Chemistry», **227**, London, Butterworths, 1963.
746. Ing H., Davies G., Wajda I., *J. Pharmacol.*, **85**, 85 (1945).
747. Ing H., Kordik P., Williams T., *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 103 (1952).
748. Ingels N., Thompson N., *Nature*, Lond., **211**, 1032 (1966).
749. Ingram D., in «Free Radicals as Studied by Electron Spin Resonances», London, Butterworths, 1958.
750. Inoue F., Frank G., *J. Pharmacol.*, **136**, 190 (1962).
751. Irving H., Butler E., Ring M., *J. Chem. Soc.*, 1489 (1949).
752. Irving H., Mellor D., *J. Chem. Soc.*, 5222, 5237 (1962).
753. Irving H., Rossotti H., *Acta Chem. Scand.*, **10**, 72 (1956).
754. Irving H., Williams R., *Nature*, Lond., **162**, 746 (1948).
755. Irving H., Williams R., *J. Chem. Soc.*, 3192 (1953).
756. Isaka S., *Nature*, Lond., **179**, 578 (1957).
757. Ishida T., Miura K., *J. Mol. Biol.*, **11**, 341 (1965).
758. Ito T., Neilands J., *J. Amer. Chem. Soc.*, **80**, 4645 (1958).
759. Ito E., Strominger J., *J. Biol. Chem.*, **237**, 2696 (1962).
760. Iversen L., in «The Uptake and Storage of Noradrenaline in Sympathetic Nerves», Cambridge, University Press, 1967.
761. Iwasa J., Fujita T., Hansch C., *J. Med. Chem.*, **8**, 150 (1965).
762. Iyer V., Szybalsky W., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **50**, 355 (1963).
763. Iyer V., Szybalsky W., *Science*, **145**, 55 (1964).
764. Izaki K., Matsushashi M., Strominger J., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **55**, 656 (1966).
765. Jackson G., Muldoon R., Akers L., *Antimicrob. Agents and Chemother.*, **703** (1963).
766. Jacob F., Monod J., *J. Mol. Biol.*, **3**, 318 (1961).
767. Jacobs M., Glassman H., Parpart A., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **7**, 197 (1935).
768. Jacobs W., Heidelberger M., *J. Amer. Chem. Soc.*, **41**, 1587 (1919).
769. Jacobson M., in «Insect Sex Attractants», New York, Interscience Wiley (1965).
770. Jaenicke L., Chan P., *Angew. Chem.*, **72**, 753 (1960).
771. Jaffé H., *Chem. Rev.*, **53**, 191 (1953).
772. von Jancsó N., *Zbl. Bakt. Abt. 1. Orig.*, **122**, 393 (1931).
773. von Jancsó N., *Klin. Woch.*, **11**, 1305 (1932).
774. von Jancsó N., von Jancsó H., *Z. Immun. Forsch.*, **88**, 275 (1936).
775. Janssen M., *J. Inorg. and Nuclear Chem.*, **8**, 340 (1958).
776. Janssen P., *Internat. Rev. Neurobiol.*, **8**, 221 (1965).
777. Jardetzky O., *J. Biol. Chem.*, **238**, 2498 (1963).
778. Jawetz E., *Arch. Intern. Med.*, **90**, 301 (1952).
779. Jellinek F., *Acta Cryst.*, **10**, 277 (1957).
780. Jensen E., Jacobson H., *Recent Prog. Hormone Res.*, **18**, 387 (1962).
781. Jensen K., Schmith K., *Z. Immunitäts*, **102**, 261 (1942).
782. Johnson D., U.S. Atom. Energy Commiss., UCRL 9350 (1960).

783. Jones M. M., *Nature, Lond.*, **185**, 96 (1960).
784. Jones O., Watson W., *Nature, Lond.*, **208**, 1169 (1965).
785. Jordan D., *The Chemistry of Nucleic Acids*, London, Butterworths, 1960.
786. Josephson E., Greenberg J., Taylor D., Bami H., *J. Pharmacol.*, **103**, 7 (1951).
787. Josephson E., Taylor D., Greenberg J., Coatney G., *J. Infect. Diseases*, **93**, 257 (1953).
788. Josephson E., Taylor D., Greenberg J., Ray A., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **76**, 700 (1951).
789. Joswick H., *Mode of action of Hexachlorophene*, Ph. D. thesis, University of Michigan (1961).
790. Kadota I., Abe T., *J. Lab. Clin. Med.*, **43**, 375 (1954).
791. Kadota I., Midorikawa O., *J. Lab. Clin. Med.*, **38**, 671 (1951).
792. Kaelin A., *Helv. Chim. Acta*, **30**, 2132 (1947).
793. Kajiro Y., Kamiyama M., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **19**, 433 (1965).
794. Kallen R., Simon M., Marmur J., *J. Mol. Biol.*, **5**, 248 (1962).
795. Kallos J., Avatis K., *Biochemistry*, **5**, 1979 (1966).
796. Кадлуна К., Беленский Б., *ДАН СССР*, **157**, 649 (1964).
797. Kalow N., *Pharmacogenetics, Heredity, and Response to Drugs*, Philadelphia, Saunders, 1962.
798. Kao C., *Pharmacol. Rev.*, **18**, 997 (1966).
799. Kaplan A., Ben-Porat T., *J. Mol. Biol.*, **19**, 320 (1966).
800. Karle I., Brockway L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **66**, 1974 (1944).
801. Karlson P., Hoffmeister H., Hummel H., Hocks P., Spitel-ler G., *Chem., Ber.*, **98**, 2394 (1965).
802. Karlson P., Sekeris C., *Biochim. Biophys. Acta*, **63**, 489 (1962).
803. Kartha G., Bello J., Harker D., *Nature, Lond.*, **213**, 862 (1967).
804. Kallander J., *Biochim. Biophys. Acta*, **71**, 730 (1963).
805. Katz B., *Proc. Roy. Soc., B*, **155**, 455 (1962).
806. Kaufman H., *Proc. Roy. Soc. Exper. Biol. Med.*, **109**, 251 (1962).
807. Kauffmann W., in «*Mechanism of Enzyme Actions*» (W. McElroy and B. Glass, eds.), Baltimore, Johns Hopkins Press (1954).
808. Kavenau J., *Structure and Function in Biological Membranes*, San Francisco, Holden-Day, 1965.
809. Kaye R., *J. Pharm. Pharmacol.*, **2**, 902 (1950).
810. Kaye R., Stonehill H., *J. Chem. Soc.*, 2638 (1951).
811. Keberle H., *Ann. New York Acad. Sci.*, **119**, (Art. 2), 758 (1964).
812. Kefford N., *Botanical Gazette*, **127**, 159 (1966).
813. Keighley E., *Brit. Med. J.*, **ii**, 93 (1962).
814. Keilin D., King T., *Proc. Roy. Soc., B*, **152**, 163 (1959).
815. Kellenberger E., Rytter A., *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, 323 (1958).
816. Kennedy E., Lehninger A., *J. Biol. Chem.*, **172**, 847 (1948).
817. Keresztes-Nagy S., Margoliash E., *J. Biol. Chem.*, **241**, 5955 (1966).
818. Kerkut G., Shapira A., Walker R., *Comparative Biochem. Physiol.*, **16**, 37 (1965).
819. Kessel D., Hall T., Roberts D., Wodinsky I., *Science*, **150**, 752 (1965).
820. Хромов-Борисов Н. В., Михельсон М., *Pharmacol. Rev.*, **18**, 1051 (1966).
- 820a. Kikuth W., *Deutsch. med. Wochs.*, **58**, 530 (1932).
821. Kikuth W., *Zbl. Bakt., Abt. I. Org.*, **135**, 135 (1935).
822. King H., *J. Chem. Soc.*, 265 (1948).
823. King H., Lourie E., Yorke W., *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **32**, 177 (1938).
824. King H., Strangeways W., *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **36**, 47 (1942).
825. Kini M., Cooper J., *Biochem. J.*, **82**, 164 (1962).
826. Kinsky S., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, **48**, 1049; *J. Bact.*, **83**, 351 (1962).
827. Kittleson A., *Science*, **115**, 84 (1952).
828. Kleiderer E., Shonle H., *J. Amer. Chem. Soc.*, **56**, 1772 (1934).
829. Kleinzeller A., Kotyk A., *Membrane Transport and Metabolism*, London and New York, Academic Press, 1964.
830. Kleven H., *J. Physical Colloid. Chem.*, **52**, 130 (1948).
831. Lotz I., *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 2299 (1946).
832. Klyne W., in «*Biochemical Society's Symposia*», № 19, Cambridge University Press (1960).
833. Kmetec E., Bueding E., *J. Biol. Chem.*, **236**, 584 (1961).
834. Knorr L., *Liebigs Annalen*, **238**, 137 (1887).
835. Knox R., in *The Scientific Basis of Medicine, Annual Reviews*, London, Athlone Press, 1962.
836. Knox W., Stampf P., Green D., Auerbach V., *J. Bact.*, **55**, 451 (1948).
837. Koelle G., *Nature, Lond.*, **190**, 208 (1961).

838. Koepfli J., Thimann K., Went F., J. Biol. Chem., **122**, 763 (1938).
839. Колосов М., Поправко С., Шемякин М., Liebigs Annalen, **668**, 86 (1963).
840. Коновалов Н., Богданов Г., Миллер В., Нейман М., Розанцев Е., Эмануэль Н., ДАН СССР, сер. биох., **157**, 259 (1964).
841. Kornberg H., Ann. Rev. Microbiol., **13**, 49 (1959).
842. Kornberg H., Morris J., Nature, Lond., **197**, 456 (1963).
843. Kortüm G., Vogel W., Andrussov K., Dissoziationskonstanten organischer Säuren in wässriger Lösung, compiled for I.U.P.A.C., London, Butterworths, 1961.
844. Kosower E., Molecular Biochemistry, New York, McGraw-Hill, 1962. (З. Косовсер, Молекулярная биохимия, изд-во «Мир», 1964.)
845. Kozloff M., Lute M., J. Mol. Biol., **12**, 780 (1965).
846. Kozloff M., Lute M., Henderson K., J. Biol. Chem., **228**, 511 (1957).
847. Козлов Ю., Тамбиев А., Тараненко Г., ДАН СССР, сер. биох., **159**, 19 (1964).
848. Krahll M., Clowes M., J. Cell. Comp. Physiol., **11**, 1, 21 (1938).
849. Krebs E., Najjar V., J. Exper. Med., **88**, 569 (1948).
850. Krebs H., Endeavour, **16**, 125 (cf. this author's contribution in Ciba Symp.: Ionizing Radiation and Cell Metabolism, London, Churchill, 1956) (1957).
851. Kritschewsky J., Zent. Bakt., **104**, 214 (1927).
852. Kritschewsky J., Z. Immunitäts., **59**, 1 (1928).
853. Krnjević K., Endeavour, **25**, 8 (1966).
854. Krnjević K., Miledi R., Nature, Lond., **182**, 805 (1958).
855. Rueger H., O'Brien R., J. Econ. Entomol., **52**, 1063 (1959).
856. Krüger-Thiemer E., Amer. Rev. Tubercul., **77**, 364 (1958).
857. Krüger-Thiemer E., Klin. Woch., **38**, 514 (1960).
858. Krüger-Thiemer E., Klin. Woch., **40**, 153 (1962).
859. Krüger-Thiemer E., Büniger P., Chematherapia, **10**, 61, 129 (1965); Klotz I., Arch. Biochem. Biophys., **9**, 109 (1946).
860. Kuehl F., Bishop M., Chaiet L., Folkers K., J. Amer. Chem. Soc., **73**, 1770 (1951).
861. Kuntzel H., Noll H., Nature, Lond., **215**, 1340 (1967).
862. Kuhn R., Angew. Chem., **53**, 1 (1940).
863. Kuhn R., Weygand F., Möller E., Ber. deutsch. chem. Ges., **76**, 1044 (1943).
864. Kumler W., Halverstadt I., J. Amer. Chem. Soc., **63**, 2182 (1941).
865. Kuntzman R., Mark L., Brand L., Jacobson M., Levin W., Conney A., J. Pharmacol., **152**, 151 (1966).
866. Laarhoven W., Nivard R., Havinga E., Experientia, **17**, 214 (1961).
867. Läger P., Martin H., Müller P., Helv. Chim. Acta, **27**, 892 (1944).
868. Lagercrantz C., Yhland M., Acta Chem. Scand., **17**, 2568 (1963).
869. Laidlaw P., Dobell C., Bishop A., Parasitology, **20**, 207 (1928).
870. Laidler K., Shuler K., J. Chem. Phys., **17**, 851, 856 (1949).
871. Lambert C., Ferreira F., Bull. Org. mond. Santé, **32**, 73 (1965).
872. Lampen J., Jones M., J. Biol. Chem., **166**, 435 (1946).
873. Lands A., Arnold A., McAuliff J., Luduena F., Brown T., Nature, Lond., **214**, 597 (cf. Dunlop D. and Shanks R., 1968), Brit. J. Pharmacol., **32**, 201 (1967).
874. Landy M., Gerstung R., J. Bact., **47**, 448 (1944).
875. Langenbeck W., Ohler K., Chem. Ber., **89**, 2455 (1956).
876. Langley J., J. Physiol., **1**, 339 (1878).
877. Langmuir I., J. Amer. Chem. Soc., **38**, 2221 (1916).
878. Langmuir I., J. Amer. Chem. Soc., **39**, 1848 (1917).
879. Langmuir I., J. Amer. Chem. Soc., **40**, 1361 (1918).
880. Lapworth M., in Theoppe's «Dictionary of Applied Chemistry», 4th Ed., **4**, 224, 235 (1940).
881. Large E., The Advance of Fungi, London, Cape, 1940.
882. Lasser N., J. Lipoid Research, **7**, 403, 413 (1966).
883. Laveran C., Mesnil F., Ann. Inst. Pasteur, **16**, 785 (1902).
884. Lawley P., Brookes P., Ann. Rep. Brit. Emp. Cancer Camp., **37**, 68 (1959).
885. Lawley P., Brookes P., Exper. Cell. Research, supp., **9**, 512 (1963).
886. Lawrence J., Loomis W., Tobias C., Turpin F., J. Physiol., **105**, 197 (1946).
887. Laycock G., Shulman A., Nature, Lond., **200**, 849 (1963).
888. Lazarus M., Rogers W., Austral. J. Sci. Res., B, **4**, 163 (1951).
889. Leake C., Koch D., Anderson H., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **27**, 717 (1930).
890. Lederberg J., J. Bact., **73**, 144 (1957).
891. Lederberg J., Lederberg E., J. Bact., **63**, 399 (1952).
892. Lee R., Hodøden M., Biochem. Pharmacol., **12**, 1241 (1963).

893. Lees H., Simpson J., *Biochem. J.*, **65**, 297 (1957).  
894. Leeson L., Krueger J., Nash A., *Tetrahed. Letters*, 1155 (1963).  
895. Le Fèvre P., *Pharmacol. Rev.*, **13**, 39 (1961).  
896. Lehninger A., *The Mitochondria*, New York, W.A., Benjamin, 1964. (А. Ле-  
нингджер, Митохондрия, изд-во «Мир», М., 1966).  
897. Lemberg R., Callaghan J., Tandy D., Goldsworthy N., *Aus-  
tral. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, **26**, 9 (1948).  
898. Lerman L., *J. Mol. Biol.*, **3**, 18 (1961).  
899. Lerman L., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **49**, 94 (1963).  
900. Lerman L., *J. Mol. Biol.*, **10**, 367 (1964).  
901. Lerman L., *J. Cell. Comp. Physiol.*, **64** (Suppl. D), 1 (1964).  
902. Letham D., Shannon J., McDonald I., *Proc. Chem. Soc.*, 236 (1964).  
903. Levaditi C., *Compt. rend. Soc. Biol.*, **64**, 911 (1908).  
904. Levine R., Goldstein M., *Recent Prog. Hormone Research*, **11**, 343 (1955).  
905. Levy B., Ahlquist R., *J. Pharmacol.*, **133**, 202 (1961).  
906. Lewis G., Brit J., *Pharmacol. Chemother.*, **9**, 488 (1954).  
907. Lewis J., *Introduction to Pharmacology*, 3rd Ed., Edinburgh, Livingstone Ltd.,  
1964.  
908. Lewis S., Waller J., Fowler K., *J. Insect Physiol.*, **4**, 128 (1960).  
909. Liébecq C., Peters R., *Biochim. Biophys. Acta*, **3**, 215 (1949).  
910. Liebermeister K., *Z. Naturforsch.*, **5b**, 79 (1950).  
911. Liebreich O., *Wiener med. Woch.*, 1087 (1869).  
912. Lindahl P., Öberg K., *Exper. Cellular Res.*, **23**, 228 (1961).  
913. Linderholm H., Berg K., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **3**, 96 (1951).  
914. Lineweaver H., Burk D., *J. Amer. Chem. Soc.*, **56**, 658 (1934).  
915. Linnane A., Vitols E., Nowland P., *J. Cell. Biol.*, **13**, 345 (1962).  
916. Lipscomb W., Coppola J., Hartsuck J., Ludwig M., Muir-  
head H., Searl J., Steitz T., *J. Mol. Biol.*, **19**, 423 (1966).  
917. Litchfield J., *J. Amer. Med. Assoc.*, **177**, 34 (1961).  
918. Litchfield J., White H., Marshall E., *J. Pharmacol.*, **69**, 166 (1940).  
919. Littlefield J., Dunn D., *Biochem. J.*, **70**, 642 (1958).  
920. Littman M., Taguchi T., Shimizu Y., *Nature, Lond.*, **203**, 726  
(1964).  
921. Litwack G., Kritchevsky D., *Actions of Hormones on Molecular Proces-  
ses*, New York, Wiley, 1965.  
922. Loewenstein W., Kanno Y., *J. Cell. Biol.*, **33**, 235 (1967).  
923. Loewi O., Navratil E., *Arch. ges. Physiol.*, **214**, 678 (1926).  
924. London F., *Trans. Farad. Soc.*, **33**, 8 (1937).  
925. Lonsdale K., Milledge H., Pant L., *Acta Cryst.*, **19**, 827 (1965).  
926. Lotspiech W., Peters R., *Biochem. J.*, **49**, 704 (1951).  
927. Luduena F., von Euler L., Tullar B., Lands A., *Arch. int. Pharmacod-  
yn.*, **111**, 392 (1957).  
928. Luduena F., Hoppe J., Nachod F., Martini C., Silvern G.,  
*Arch. int. Pharmacodyn.*, **101**, 17 (1955).  
929. Lueck L., Wurster D., Higuchi T., Lemberger A., Busse L.,  
*J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **46**, 694, 698 (1957).  
930. Lukens R., Sisler H., *Phytopathology*, **48**, 235 (1958).  
931. Lundegårdh H., *Biochem. Z.*, **290**, 104 (1937).  
932. Luongo M., Bjornson S., *New Engl. J. Med.*, **251**, 995 (1954).  
933. Lush D., Reich E., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **52**, 931 (1964).  
934. Luzzati V., Husson F., *J. Cell. Biology*, **12**, 207 (1962).  
935. Luzzati V., Masson F., Lerman L., *J. Mol. Biol.*, **3**, 634 (1961).  
936. Lwoff A., *Proc. Roy. Soc., B*, **154**, 1 (1961).  
937. Lwoff A., Lwoff M., *Compt. rend.*, **260**, 4116 (1965).  
938. Maas J., Colburn R., *Nature, Lond.*, **208**, 41 (1965).  
939. Maass E., Johnson M., *J. Bacteriol.*, **57**, 415 (1949).  
940. McCabe M., *Biochem. J.*, **104**, 8P (1967).  
941. McCalla T., *Proc. Soil Science Soc. of America*, **6**, 165 (1941).  
942. McCarthy B., Bolton E., *J. Mol. Biol.*, **8**, 184 (1964).  
943. McCormick J., Jensen E., Miller P., Doerschuck A., *J. Amer.  
Chem. Soc.*, **82**, 3381 (1960).  
944. McFarlane M., *Biochem. J.*, **80**, 45P (1961).  
945. McIlwain H., *Biochem. J.*, **35**, 1311 (1941).  
946. McIlwain H., *Chemotherapy and the Central Nervous System*, London, Churchill,  
1957.  
947. McIlwain H., in «Enzymes and Drug Actions» (J. Mongar and A. de Reuck, eds.),  
London, Churchill (1962).  
948. Macintosh F., Birks R., Sastry R., *Nature, Lond.*, **178**, 1181 (1956).  
949. Mackaness G., *Amer. Rev. Tubercul.*, **69**, 690 (1954).  
950. Macleod R., Snell E., *J. Biol. Chem.*, **176**, 39 (1948).

951. Macomber P., Spring H., Tousimis A., Nature, Lond., **214**, 937 (1967).
952. Magee P., in Ciba Symp.: Cellular Injury (A. de Reuck and J. Knight, eds.), **1**, London, Churchill (1964).
953. Magee P., Farber E., Biochem. J., **83**, 114 (1962).
954. Magrath D., Phillips J., J. Chem. Soc., 1940 (1949).
955. Mahler H., Mehrotra B., Sharp C., Biochem. Biophys. Res. Commun., **4**, 79 (1960).
956. Malmström B., Rosenberg A., Advances Enzymol., **21**, 131 (1959).
957. Mandel H., Oliver H., Riis M., Molecular Pharmacol., **3**, 526 (1967).
958. Mandelstam J., Biochem. J., **84**, 294 (1962).
959. Manifold M., Brit. J. Exper. Path., **22**, 111 (1941).
960. Mann T., Keilin D., Nature, Lond., **146**, 164 (1940).
961. Manson P., Ann. Trop. Med., **2**, 49 (1908).
962. Mansour T., Advances Pharmacol., **3**, 129 (1964).
963. Mansour T., Bueding E., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **8**, 431 (1953).
964. Mansour T., Bueding E., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **9**, 459 (1954).
965. Maren T., Wadsworth B., Yale E., Lonso L., Johns Hopkins Hosp. Bull., **95**, 277 (1954).
966. Margoshes M., Vallee B., J. Amer. Chem. Soc., **79**, 4813 (1957).
967. Mark J., Calabresi P., Cancer Chemother. Ref., **16**, 545 (1962).
968. Mark L., Burns J., Brand L., Campomanes C., Trousof N., Papper E., Brodie B., J. Pharmacol., **123**, 70 (1958).
969. Marks H., Wyss O., Strandskov F., J. Bact., **49**, 299 (1945).
970. Marston H., Allen S., Smith R., Nature, Lond., **190**, 1085 (1961).
971. Martell A., Calvin M., Chemistry of the Metal Chelate Compounds, New York, Prentice-Hall, Inc., 1952.
972. Martin H., The Scientific Principles of Plant Protection with Special Reference to Chemical Control, London, Edward Arnold, 1940.
973. Martin H., Wain R., Nature, Lond., **154**, 512 (1944).
974. Martin-Scott I., Brit. Med. J., **i**, 837 (1949).
975. Martius C., Liebig's Annalen, **561**, 227 (1949).
976. Mason D., Powell D., J. Bact., **71**, 474 (1956).
977. Massey V., Hofmann T., Palmer G., J. Biol. Chem., **237**, 3820 (1962).
978. Matthews B., Sigler P., Henderson R., Blow D., Nature, Lond., **214**, 652 (1967).
979. Matthews R., J. Gen. Microbiol., **10**, 521 (1954).
980. Mauss H., Ber. deutsch. chem. Ges., **81**, 19 (1948).
981. Mauss H., Mietzsch F., Klin. Woch., **12**, 1276 (1933).
982. Mayer S., Maickel R., Brodie B., J. Pharmacol., **127**, 205 (1959).
983. Means A., Hamilton T., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **56**, 1594 (1966).
984. Mees G., Ann. Appl. Biol., **48**, 601 (1960).
985. Meier H., Experimental Pharmacogenetics, New York, Academic Press, 1963.
986. Melkin R., Rabinowitz J., Biochemistry, **5**, 1262 (1966).
987. Mercer F., Ann. Rev. Plant Physiol., **11**, 1 (1960).
988. Merigan T., Kleinschmidt W., Nature, Lond., **208**, 667 (1965).
989. Meselson M., Stahl F., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **44**, 671 (1958).
990. Metcalf R., Organic Insecticides, New York, Interscience, 1955.
991. Meyer H., Arch. exper. Path. Pharmacol., **42**, 109, 119 (1899).
992. Meyer K., Hemmi H., Biochem. Z., **277**, 39 (1935).
993. Michaelis L., Hill E., J. Gen. Physiol., **16**, 859 (1933).
994. Michaelis L., Menten M., Biochem. Z., **13**, 333 (1913).
995. Michaelis L., Schubert M., Chem. Rev., **22**, 437 (1938).
996. Miledi R., in Ciba Symp. «Enzymes and Drug Actions» (J. Mongar and A. de Reuck, eds.), London, Churchill (1962).
997. Miledi R., Slater C., J. Physiol., **184**, 473 (1966).
998. Miles A., Mirsa S., J. Hyg., Cambridge, **38**, 732 (1938).
999. Millardet A., J. Agric. prat., Paris, **49**, 513, 801 (1885).
1000. Miller A., Proc. Soc. Exper. Biol., Med., **57**, 151 (1944).
1001. Miller B., Baker Z., Science, **91**, 624 (1940).
1002. Miller E., Miller J., Hartmann H., Cancer Res., **21**, 815 (1961).
1003. Miller K., Paton W., Smith E., Nature, Lond., **206**, 574 (1965).
1004. Miller S., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **47**, 1515 (1961).
1005. Miller W., Dessert A., Roblin R., J. Amer. Chem. Soc., **72**, 4893 (1950).
1006. Miller W., Roblin R., Astwood E., J. Amer. Chem. Soc., **67**, 2201 (1945).
1007. Misra A., Hunger A., Keberle H., J. Pharm. Pharmacol., **18**, 246, 535 (1965).
1008. Misra D., Humphreys S., Friedkin M., Goldin A., Crawford E., Nature, Lond., **189**, 39 (1961).

1009. Mitchell P., in *Biological Structure and Function* (T. Goodwin and O. Lindberg, eds.), New York, Academic Press, 2, 581 (1961).
1010. Mitchell P., in *Structure and Function of Membranes and Surfaces of Cells*, Biochem. Soc. Symp., 22, 142, Cambridge, University Press (1963).
1011. Mitchell P., Moyle J., *Biochem. J.*, **64**, 19P (1956).
1012. Mitchell P., Moyle J., in *Bacterial Anatomy, Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, **6**, 150 (1956).
1013. Mitchell P., Moyle J., *J. Gen. Microbiol.*, **16**, 184 (1957).
1014. Mitchell P., Moyle J., *J. Gen. Microbiol.*, **20**, 434 (1959).
1015. Mitsuhashi S., Harada K., Hashimoto H., *Jap. J. Exper. Med.*, **30**, 179 (1960).
1016. Mollenhauer H., Morré D., *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **17**, 27 (1966).
1017. Monod J., Changeux J. P., Jacob F., *J. Mol. Biol.*, **6**, 306 (1963).
1018. Monod J., Wyman J., Changeux J. P., *J. Mol. Biol.*, **12**, 88 (1965).
1019. Moore C., Pressman B., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **15**, 562 (1964).
1020. Morgan G., Cooper E., *Reports of the 8th International Congress of Applied Chemistry*, **19**, 243 (1912).
1021. Morgan G., Drew H., *J. Chem. Soc.*, **117**, 1456 (1920).
1022. Morgenroth J., Levy R., *Berl. klin. Woch.*, **48**, 1560, 1979 (1911).
1023. Moss F., Lemberg R., *Austral. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, **28**, 667 (1950).
1024. Moyed H., *J. Biol. Chem.*, **236**, 2261 (1961).
1025. Moyer A., Coghill R., *J. Bact.*, **53**, 329 (1947).
1026. Mudge C., Smith F., *Amer. J. Pub. Health*, **25**, 442 (1935).
1027. Mueller J., Vilter R., *J. Clin. Invest.*, **29**, 193 (1950).
1028. Müller K., *Recent Adv. in Botany*, **1**, 396, Toronto, University Press, 1961.
1029. Mueller P., Rudin D., *Nature, Lond.*, **213**, 603 (1967).
1030. Mueller P., Rudin D., Thien H., Wescott W., *Nature, Lond.*, **194**, 979 (1962).
1031. Mullins L., *Chem. Rev.*, **54**, 289 (1954).
1032. Murray A., *Biochem. J.*, **100**, 664 (1966).
1033. Nachmansohn D., *Yale J. Biol. and Med.*, **12**, 565 (1940).
1034. Nachmansohn D., *Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity*, New York, Academic Press, 1959.
1035. Narahashi T., Moore J., Scott W., *J. Gen. Physiol.*, **47**, 965 (1964).
1036. Nash T., Allison A., Harrington J., *Nature, Lond.*, **210**, 259 (1966).
1037. Nass M., Nass S., Afzelius B., *Exper. Cell. Research*, **37**, 516 (1965).
1038. Nathans D., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **51**, 585 (1964).
1039. Nathans D., Neidle A., *Nature, Lond.*, **197**, 1076 (1963).
1040. Nebert D., Mason H., *Cancer Res.*, **23**, 833 (1963).
1041. Nelson E., *J. Pharm. Sci.*, **50**, 181 (1961).
1042. Nelson E., O'Reilly I., *J. Pharmacol.*, **129**, 368 (1960).
1043. Nelson E., O'Reilly I., *J. Pharm. Sci.*, **50**, 417 (1961).
1044. Némethy G., Scheraga H., *J. Chem. Phys.*, **36**, 3382 (1962).
1045. Neupert W., Brdiczka D., Bücher T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **27**, 488 (1967).
1046. Neurath H. (ed.), *The Proteins*, vols 1—4, 2nd Ed., New York, Academic Press (1964—1966).
1047. Neville D., Davies D., *J. Mol. Biol.*, **17**, 57 (1966).
1048. Newton B., *J. Gen. Microbiol.*, **17**, 718 (1957).
1049. Newton B., *Biochem. J.*, **77**, 17P (1960).
1050. Newton B., in *«Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs»* (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press, 1966.
1051. Nichol C., Hakala M., *Biochem. Pharmacol.*, **15**, 1621 (1966).
1052. Nichol C., Welch A., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **74**, 403 (1950).
1053. Nicholas D., Stevens H., *Nature, Lond.*, **176**, 1066 (1955).
1054. Nickerson M., *Nature, Lond.*, **178**, 697 (1956).
1055. Nickerson M., *Pharmacol. Rev.*, **9**, 246 (1957).
1056. Nickerson W., Falcone G., *Science*, **124**, 722 (1956).
1057. Nickerson W., Falcone G., Kessler G., in *«Macromolecular Complexes»* (M. Edds, ed.), New York, Ronald Press, 205 (1961).
1058. Niemann G., Dekker J., *Netherlands J. of Plant Path.*, **72**, 213 (1966).
1059. Nimmo-Smith R., Lascelles J., Woods D., *Brit. J. Exper. Path.*, **29**, 264 (1948).
1060. Nimmo-Smith R., Woods D., *J. Gen. Microbiol.*, **2**, x (1948).
1061. Nirenberg M., Jones D., Leder P., Clark B., Sly W., Pestka S., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **28**, 549 (1963).
1062. Nogami H., Matsuzawa T., *Chem. Pharm. Bull. Japan*, **9**, 532 (in English) (1963).
1063. Nordbrink-Hertz B., *Physiol. Plantarum*, **8**, 691 (1955).

1064. Northey E., *The Sulfonamides and Allied Compounds*, New York, Reinhold, 1948.
1065. Norton S., *Brit. J. Pharmacol.*, **9**, 494 (1954).
1066. Novak V., *Insect Hormones*, London, Methuen, 1966.
1067. O'Brien R., *Toxic Phosphorus Esters. Chemistry, Metabolism, and Biological Effects*, New York and London, Academic Press, 1960.
1068. O'Brien R., *Ann. Rev. Entomol.*, **11**, 369 (1966).
1069. O'Brien R., *Insecticides*, New York, Academic Press, 1967.
1070. O'Brien R., Olenick J., Hahn F., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **55**, 1511 (1966).
1071. O'Brien R., Spencer E., *Nature, Lond.*, **179**, 52 (1957).
1072. Östergren G., *Colloques internationaux du Centre nationale de la Recherche scientifique, Paris*, № 26, *Mécanisme de la Narcose*, 77 (1951).
1073. Oliver M., Roberts S., Hayes D., Pantridge J., Suzman M., Bersohn I., *Lancet*, **i**, 143 (1963).
1074. Oppenoorth F., *Ann. Rev. Entomol.*, **10**, 185 (1965).
1075. Ordal E., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **47**, 387 (1941).
1076. Ordal E., Deromedi F., *J. Bact.*, **45**, 293 (1943).
1077. Orloff J., Berliner R., *J. Clin. Invest.*, **35**, 223 (1956).
1078. Ormerod W., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **6**, 325 (1951).
1079. Ormerod W., *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **7**, 674 (1952).
1080. Ormerod W., *Proc. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **55**, 313 (1961).
1081. Osborn M., Freeman M., Huennekens F., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **97**, 429 (1958).
1082. O'Sullivan D., Sadler P., *Nature, Lond.*, **192**, 341 (1961).
1083. Overton E., *Studien über die Narkose*, Jena, G. Fischer, 1901.
1084. Owens R., *Ann. Rev. Phytopathology*, **1**, 77 (1963).
1085. Page E., *Biochem. J.*, **100**, 34P (1966).
1086. Palade G., in *«Subcellular Particles»* (T. Hayashi, ed.), New York, Ronald Press (1959).
1087. Palaty V., *Nature, Lond.*, **211**, 1177 (1966).
1088. Paléus S., Tuppy H., *Acta Chem. Scand.*, **13**, 641 (1959).
1089. Pappenheimer J., Heissey S., Jordan E., *Amer. J. Physiol.*, **200**, 1 (1961).
1090. Pardee A., in *The Enzymes* (P. Boyer, H. Lardy, and K. Myrback, eds.), New York, Academic Press (2nd Ed.), **1**, 681, (1959).
1091. Pardee A., *J. Biol. Chem.*, **241**, 5886 (1966).
1092. Pardee A., *Science*, **156**, 1627 (1967).
1093. Pardee A., Pauling L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **71**, 143 (1949).
1094. Park J., *J. Biol. Chem.*, **194**, 877, 885, 897 (1952).
1095. Park J., *Fed. Proc.*, **13**, 271 (1954).
1096. Park J., in *«Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs»* (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press (1966).
1097. Park J., Strominger J., *Science*, **125**, 99 (1957).
1098. Parpart A., Ballentine R., in *Modern Trends in Physiology and Biochemistry* (E. Barron, ed.), New York, Academic Press, p. 135 (1952).
1099. Pasternak C., Handschumacher R., *J. Biol. Chem.*, **234**, 2992 (1959).
1100. Paton W., *Proc. Roy. Soc. Med.*, **53**, 815 (1960).
1101. Paton W., *Proc. Roy. Soc., B*, **154**, 21 (1961).
1102. Paton W., Perry W., *J. Physiol.*, **119**, 43 (1953).
1103. Paton W., Speden R., *Brit. Med. Bull.*, **21**, 44 (1965).
1104. Paton W., Zaimis E., *Nature, Lond.*, **162**, 810 (1948).
1105. Paton W., Zaimis E., *Brit. J. Pharmacol.*, **4**, 381 (1949).
1106. Paton W., Zaimis E., *Pharmacol. Rev.*, **4**, 219 (1952).
1107. Pauling L., *Nature of the Chemical Bond*, 3rd Ed., Ithaca, Cornell, University Press, 1960.
1108. Pauling L., *Science*, **134**, 15 (1961).
1109. Pauling L., Corey R., *Proc. Roy. Soc., B*, **141**, 21 (1958).
1110. Peacocke A., Skerrett J., *Trans. Farad. Soc.*, **52**, 261 (1956).
1111. Perkins E., Wood R., Sears M., Prusoff W., Welch A., *Nature, Lond.*, **194**, 985 (1962).
1112. Perlman D., Toohey J., *Nature, Lond.*, **212**, 301 (1966).
1113. Perrin D. D., *J. Chem. Soc.*, 3125 (1958).
1114. Perrin D. D., *Nature, Lond.*, **182**, 741 (1958).
1115. Perrin D. D., *Reviews of Pure and Appl. Chem. (Australia)*, **9**, 257 (1959).
1116. Perrin D. D., *Nature, Lond.*, **191**, 263 (1961).
1117. Perrin D. D., *J. Chem. Soc.*, 645 (1962).
1118. Perrin D. D., in *«Advances in Heterocyclic Chemistry»*, **4**, 43 (1965).
1119. Perrin D. D., *Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*, compiled for I.U.P.A.C., London, Butterworths, 1965.



1120. Perrin D. D., *Nature, Lond.*, **206**, 170 (1965).  
1121. Perrin D. D., *J. Chem. Soc.*, 5590 (1965).  
1122. Perrin D. D., Sayce I., *J. Chem. Soc., A*, 82 (1968).  
1123. Perrin D. D., Sayce I., *Talanta*, **14**, 833 (1968).  
1124. Perrin D. D., Sayce I., Sharma V., *J. Chem. Soc., A*, 1755 (1967).  
1125. Perrin D. D., Sharma V., *Biochim. Biophys. Acta*, **127**, 35 (1966).  
1126. Perrin D. D., Sharma V., *J. Chem. Soc., A*, 446 (1968).  
1127. Perrin D. R., Bottomley W., *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 1919 (1962).  
1128. Perry A., Mattson A., Buckner A., *Biol. Bull.*, **104**, 426 (1953).  
1129. Perry H., Teitelbaum S., Schwartz P., *Fed. Proc.*, **14**, 113 (1955).  
1130. Perutz M., Kendrew J., Watson H., *J. Mol. Biol.*, **13**, 669 (1965).  
1131. Peters L., *Pharm. Rev.*, **12**, 1 (1960).  
1132. Peters R., *Nature, Lond.*, **138**, 327 (1936).  
1133. Peters R., *Brit. Med. Bull.*, **5**, 313 (1948).  
1134. Peters R., *Biochemical Lesions and Lethal Synthesis*, Oxford, Pergamon Press, 1963.  
1135. Peters R., Stocken L., Thompson R., *Nature, Lond.*, **156**, 616 (1945).  
1136. Peters R., Wakelin R., Rivett S., Thomas L., *Nature, Lond.*, **171**, 1111 (1953).  
1137. Peyronel G., Z. Krist., **103**, 139, 157 (1940).  
1138. Pfeleiderer W., Taylor E. (eds.), *Pteridine Chemistry*, Oxford, Pergamon Press, 1964.  
1139. Phillips D., *Scientific American*, **215**, 78 (1966).  
1140. Phillips J., Lowe M., *Nature, Lond.*, **194**, 1058 (1962).  
1141. Phillips R., Love A., Mitchell T., Neptune E., *Nature, Lond.*, **206**, 1367 (1965).  
1142. Piette L., Forrest I., *Biochim. et Biophys. Acta*, **57**, 419 (1962).  
1143. Pillai M., Brown A., *Mosquito News*, **23**, 118 (1963).  
1144. Piper C., *J. Agric. Science*, **32**, 143 (1942).  
1145. Pirie A., van Heyningen R., *Nature, Lond.*, **173**, 873 (1954).  
1146. Pitts R., Alexander R., *Amer. J. Physiol.*, **147**, 138 (1954).  
1147. Pitzer K., *Adv. Chemical. Physics*, **2**, 59 (1959).  
1148. Plaut G., *J. Biol. Chem.*, **235**, PC 41 (1960).  
1149. Plimmer H., Thompson J., *Proc. Roy. Soc. Lond., B*, **79**, 505 (1907).  
1150. Plimmer H., Thompson J., *Proc. Roy. Soc. Lond., B*, **80**, 1 (1908).  
1151. Poate H., *Lancet*, **ii**, 238; *Med. J. Aust.*, **i**, 242 (1944).  
1152. Pollock M., Perret C., *Brit. J. Exper. Path.*, **32**, 387 (1951).  
1153. Porter K., Bonneville M., in *Fine Structure of Cells and Tissues*, 2nd Ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1964.  
1154. Porter K., Bruni C., *Cancer Res.*, **19**, 997 (1959).  
1155. Possingham J., Spencer D., *Austral. J. Biol. Sci.*, **15**, 58 (1962).  
1156. Post R., Merritt C., Kinsolving C., Albright C., *J. Biol. Chem.*, **235**, 1796 (1960).  
1157. Potts A., *Investigative Ophthalmol.*, **1**, 522 (1962).  
1158. Pratesi P., *Pure Appl. Chem.*, **6**, 435 (1963).  
1159. Pratesi P., La Manna A., Campiglio A., Ghislandi V., *J. Chem. Soc.*, 4062 (1959).  
1160. Prelog V., *Proc. Internat. Symp. Pharmaceut. Chem.*, Florence, London, Butterworths, 1963.  
1161. Pressman D., Grossberg A., Pence L., Pauling L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 250 (1946).  
1162. Pritchard N., Blake A., Peacocke A., *Nature, Lond.*, **212**, 1360 (1966).  
1163. Prusoff W., *Cancer Research*, **23**, 1246 (1963).  
1164. Pullman A., *Compt. rend.*, **221**, 140 (1945).  
1165. Pullman A., Pullman B., *Cancérisation par les Substances chimiques et Structures moléculaires*, Paris, Masson, 1955.  
1166. Pullman A., Pullman B., *Nature, Lond.*, **196**, 228 (1962).  
1167. Putnam F., Neurath H., *J. Amer. Chem. Soc.*, **66**, 1992 (1944).  
1168. Quastel J., *Physiol. Rev.*, **19**, 135 (1939).  
1169. Quastel J., Wooldridge W., *Biochem. J.*, **21**, 1224 (1927).  
1170. Rabaté E., *La Destruction des mauvaises Herbes*, Paris, Librairie l'Académie de l'Agriculture, 1927.  
1171. Racker E., Krimsky I., *J. Exper. Med.*, **85**, 715 (1947).  
1172. Racker E., Krimsky I., *J. Biol. Chem.*, **173**, 519 (1948).  
1173. Rahn O., Conn J., *Indust. Eng. Chem.*, **36**, 185 (1944).  
1174. Rall D., Zubrod C., *Fed. Proc.*, **19**, 80 (1960).  
1175. Rall T., Sutherland E., *Pharmacol. Rev.*, **9**, 211 (1959).  
1176. Rao K., Biemann K., Woodward R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 2532 (1963).

1177. Rappaport C., Howze G., Proc. Soc., Exper. Biol. Med., **121**, 1010, 1016 (1966).
1178. Raventós J., Quart. J. Exper. Physiol., **26**, 361 (1937).
1179. Recknagel R., Ghoshal A., Nature, Lond., **210**, 1162 (1966).
1180. Redi F., Osservazioni intorno agli animali viventi che si trovano negli animali viventi, Florence, Piero Matini, 1684.
1181. Reich E., Science, **143**, 684 (1964).
1182. Reich E., Goldberg I., Rabinowitz M., Nature, Lond., **196**, 743 (1962).
1183. Reid J., Amer. J., Hyg., **16**, 540 (1932).
1184. Reiner L., Leonard C., Chao S., Arch. int. Pharmacodyn., **43**, 186, 199 (1932).
1185. Remmer H., in «First Internat. Pharmacol. Meeting», **6**, 235 (1962).
1186. Rendi R., Ochoa S., J. Biol. Chem., **237**, 3711 (1962).
1187. Renis H., Johnson H., Proc. Amer. Soc. Microbiol., p. 140 (1962).
1188. Reuse J., Brit. J. Pharmacol., **3**, 174 (1948).
1189. Reynolds P., in «Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs» (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press (1966).
1190. Rice S., Nagasawa M., Polyelectrolyte Solutions, New York, Academic Press, 1961.
1191. Richards R., Taylor J., Anesthesiology, **17**, 414 (1956).
1192. Richmond D., Somers E., Ann. Appl. Biol., **57**, 231 (1966).
1193. Rickenberg H., Cohen G., Butlin G., Monod J., Ann. Inst. Pasteur, **91**, 829 (1956).
1194. Ricks M., Hoskins W., Physiological Zoology, **21**, 258 (1948).
1195. Rideal E., Chem. and Indust., **58**, 830 (1939).
1196. Rideal E., Endeavour, **4**, 83 (1945).
1197. Riegel B., Sherwood L., J. Amer. Chem. Soc., **71**, 1129 (1949).
1198. Rigler N., Bag S., Leyden D., Sudmeier J., Reiley C., Anal. Chem., **37**, 872 (1965).
1199. Ringer S., J. Physiol., **4**, 29 (1883).
1200. Ringold H., in «Mechanism of Action of Steroid Hormones» (C. Villee and L. Engel, eds.), Oxford, Pergamon Press (1961).
1201. Ritchie J., Greengard P., Ann. Rev. Pharmacology, **6**, 405 (1966).
1202. Robbins W., Crafts A., Raynor R., Weed Control, New York, McGraw-Hill, 1942.
1203. Roberts H., Nature, Lond., **174**, 1178 (1954).
1204. Roberts J., Warwick G., Nature, Lond., **197**, 87 (1963).
1205. Roberts M., Rahn O., J. Bact., **52**, 612 (1946).
1206. Robertson J. D., in Biochem. Soc. Symp., **16**, «Structure and Function of Sub-cellular Components» (E. Crook, ed.), Cambridge, University Press, 3 (1959).
1207. Robertson J. M., Woodward I., Proc. Roy. Soc., Lond., A, **162**, 568 (1937).
1208. Robins R., Hitchings G., J. Amer. Chem. Soc., **77**, 2256 (1955).
1209. Robinson G., Butcher R., Sutherland E., Ann. N.Y. Acad. Sci., **139**, art. 3, 703 (1967).
1210. Robinson R., Brit. Med. J., **1**, 945 (1946).
1211. Roblin R., Chem. Rev., **38**, 255 (1946).
1212. Robson J., Stacey R., Recent Advances in Pharmacology, 3rd Ed., London, Churchill, 1962.
1213. Röe O., Pharmacol. Rev., **7**, 399 (1955).
1214. Roehl W., Arch. Schiffs. und Tropenhyg., **30**, Beiheft, 3, 33 (1926).
1215. Röller H., Dahm K., Trost B., Sweeley C., Chem. Eng. News, № 16, 481 (1967).
1216. Rogers E. and 12 others, J. Amer. Chem. Soc., **82**, 2974 (1960).
1217. Rogers R., in «The Structure and Function of Membranes and Surfaces of Cells», Biochem. Soc. Symp., **22**, Cambridge, University Press (1963).
1218. Rogers H., Biochem. J., **103**, 90 (1967).
1219. Rogers H., Mandelstam J., Biochem. J., **84**, 299 (1962).
1220. Rogers L., Brit. Med. J., **1**, 1424 (1912).
1221. Rolinson G., Sutherland R., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **25**, 638 (1965).
1222. Rollo I., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **10**, 208 (1955).
1223. Романовский Д., Диссертация, Санкт-Петербург, 1891.
1224. Rosenthal S., U.S. Pub. Health Reports, **47**, 933 (1932).
1225. Rosenthal S., Voegtlin C., J. Pharmacol., **39**, 347 (1930).
1226. Rosi D., Peruzzotti G., Dennis E., Berberian D., Freele H., Archer S., Nature, Lond., **208**, 1005 (1965).
1227. Ross W., Adv. Cancer Research, **1**, 397 (1953).
1228. Ross W., Biochem. Pharmacol., **8**, 235 (1961).
1229. Ross W., Biological Alkylating Agents, London, Butterworths, 1962.

1230. van Rossum J., Ariëns E., Arch. internat. Pharmacodyn., **118**, 418 (1959).  
1231. van Rossum J., Ariëns E., Arch. internat. Pharmacodyn., **136**, 385 (1962).  
1232. van Rossum J., Cornelissen M., de Groot T., Hurkmans J., *Experientia*, **16**, 372 (1960).  
1233. Roszkowski A., J. Pharmacol., **149**, 288 (1965).  
1234. Roszkowski A., Poos G., Mohrbacher R., Science, **144**, 412 (1964).  
1235. Roth B., Falko E., Hitchings G., J. Med. Pharm. Chem., **5**, 1103 (1962).  
1236. Roth L., Eisner T., Ann. Rev. Entomol., **7**, 107 (1962).  
1237. Rothschild J., Fed. Proc., **20**, 145 (1961).  
1238. Rothschild J., Howden G., Nature, Lond., **192**, 283 (1961).  
1239. Rothstein A., Meier R., Fed. Proc., **7**, 252 (1948).  
1240. Rouf M., J. Bact., **88**, 1545 (1964).  
1241. Rowley D., Cooper P., Roberts P., Lester Smith E., Biochem. J., **46**, 157 (1950).  
1242. Rubbo S., Albert A., Gibson M., Brit. J. Exper. Path., **31**, 425 (1950).  
1243. Rubbo S., Albert A., Maxwell M., Brit. J. Exper. Path., **23**, 69 (1942).  
1244. Rubbo S., Gillespie J., Nature, Lond., **146**, 838 (1940).  
1245. Rubin M., Changeux J.-P., J. Mol. Biol., **21**, 265 (1966).  
1246. Ruggli P., J. Soc. Dyers and Colourists, Jubilee Number, 77 (1934).  
1247. Russell D., Falconer M., Brit. J. Surg., **28**, 472 (1941).  
1248. Russell D., Falconer M., Lancet, **i**, 580 (1943).  
1249. Rye R., Wiseman D., J. Pharm. Pharmacol., **18**, 114(S) (1966).  
1250. Ryter A., Jacob F., Ann. Inst. Pasteur, **107**, 384 (1964).  
1251. Sager R., Ishida M., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **50**, 725 (1963).  
1252. Salton M., J. Gen. Microbiol., **5**, 391 (1951).  
1253. Salton M., J. Gen. Microbiol., **30**, 233 (1963).  
1254. Salton M., Horne R., Cosslett V., J. Gen. Microbiol., **5**, 405 (1951).  
1255. Sanger F., Proc. Chem. Soc., Lond., **76** (1963).  
1256. Santi R., J. Pharm. Pharmacol., **16**, 437 (1964).  
1257. Santi R., Santi-Soncin E., (1966), личное сообщение.  
1258. Saukkonen J., Nature, Lond., **192**, 816 (1961).  
1259. Saz A., Martinez L., J. Bact., **79**, 527 (1960).  
1260. Sazerac R., Levaditi C., Compt. rend., **173**, 1201 (1921).  
1261. Scarbrough H., J. Org. Chem., **26**, 2579 (1961).  
1262. Schade A., Caroline L., Science, **100**, 14 (1944).  
1263. Schaffer N., May S., Summerson W., Fed. Proc., **11**, 282 (1952).  
1264. Schaffer N., May S., Summerson W., J. Biol. Chem., **206**, 201 (1954).  
1265. Schanker L., J. Pharmacol., **126**, 283 (1959).  
1266. Schanker L., Ann. Rev. Pharmacol., **1**, 29 (1961).  
1267. Schanker L., Jeffrey J., Nature, Lond., **190**, 727 (1961).  
1268. Schanker L., Shore P., Brodie B., Hogben C., J. Pharmacol., **120**, 528 (1957).  
1269. Schanker L., Tocco D., Brodie B., Hogben C., J. Pharmacol., **123**, 81 (1958).  
1270. Schatz G., Haslbrunner E., Tuppy H., Biochem. Biophys. Res. Commun., **15**, 127 (1964).  
1271. Scheff G., Hasskó A., Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., **136**, 420 (1936).  
1272. Schellenberg K., Coatsney G., Biochem. Pharmacol., **6**, 143 (1961).  
1273. Schild H., Brit. J. Pharmacol., **2**, 189 (1947).  
1274. Schild H., J. Physiol., **153**, 26P (1960).  
1275. Schildkraut G., Mandel M., Levisohn S., Smith-Sonneborn J., Marmur J., Nature, Lond., **196**, 795 (1962).  
1276. Schmidt G., Hodkin D., Oughton B., Biochem. J., **65**, 744 (1957).  
1277. Schnitzer R., Z. Immun. Forsch., **47**, 116 (1926).  
1278. Schönhöfer F., Z. physiol. Chem., **274**, 1 (1942).  
1279. Schou M., Pharmacol. Rev., **9**, 17 (1957).  
1280. Schou M., Psychopharmacologia, **1**, 65 (1959).  
1281. Schraufstätter E., Z. Naturforsch., **5b**, 190 (1950).  
1282. Schroeder H., Perry H., Menhard E., J. Lab. Clin. Med., **46**, 416 (1955).  
1283. Schubert J., Chimia, **11**, 113 (1957).  
1284. Schubert J., Lindenbaum A., J. Amer. Chem. Soc., **74**, 3529 (1952).  
1285. Schueler F., Arch. int. Pharmacodyn., **95**, 376 (1953).  
1286. Schueler F., J. Pharmacol., **115**, 127 (1956).  
1287. Schueler F., Chemobiodynamics and Drug Design, New York, McGraw-Hill, 1960.  
1288. Schümann H., Arch. exp. Path. Pharmacol., **241**, 200 (1961).  
1289. Schulemann W., Schönhöfer E., Wingler A., Klin. Woch., **ii**, 381 (1932).  
1290. Schulman J., Rideal E., Proc. Roy. Soc., B, **122**, 46 (1937).  
1291. Schultz F., Z. physiol. Chem., **265**, 113 (1940).

1292. Schultzen O., Naunyn B., Arch. Anat. Physiol., 349 (1867).
1293. Schwartz D., Nature, Lond., 183, 464 (1959).
1294. Schwarz K., Mertz W., Arch. Biochem. Biophys., 85, 292 (1959).
1295. Schwyzler R., Ciba Found. Symp., Aminoacids, Peptides, Antimetabolic Activity, London, Churchill, 171 (1958).
1296. Selbie F., Brit. J. Exper. Path., 21, 90 (1940).
1297. Selbie F., McIntosh J., J. Path. Bact., 55, 477 (1943).
1298. Seven M., in «Metal-binding in Medicines (M. Seven and L. Johnson, eds.), Philadelphia, Lippincott, 95 (1960).
1299. Sexton W., Slade R., Templeman W., Brit. Pat., 573, 929 (1941).
1300. Seydel J., Mol. Pharmacol., 2, 259 (1966).
1301. Seydel J., Krüger-Thiemer E., Wempe E., Z. Naturforsch., 15b, 628 (1960).
1302. Shamberger R., Rudolph G., Experientia, 22, 116 (1966).
1303. Shanes A., Pharmacol. Rev., 10, 59 (1958).
1304. Shapiro H., J. Theoret. Biol., 1, 289 (1961).
1305. Shashoura V., Nature, Lond., 215, 846 (1967).
1306. Shatkin A., Tatum E., Amer. J. Botany, 48, 760 (1961).
1307. Shepherd R., Wilkinson R., J. Med. Pharm. Chem., 5, 823 (1962).
1308. Sherlock E., Chem. and Indust., 715 (1962).
1309. Shiman R., Nielsands J., Biochemistry, 4, 2233 (1965).
1310. Shindo H., Brown T., J. Amer. Chem. Soc., 87, 1904 (1965).
1311. Shive W., Ackermann W., Gordon M., Getzendaner M., Eakin R., J. Amer. Chem. Soc., 69, 725 (1947).
1312. Shoppee C., Chemistry of the Steroids, London, Butterworths, 1964.
1313. Shriner R., Adams R., Marvel C., in «Organic Chemistry» (H. Gilman, ed.), New York, Wiley, 1, 214 (1943).
1314. Shiguera H., Gordon C., Biochemistry, 2, 1132 (1963).
1315. Shulman A., Laycock G., Henry J., Nature, Lond., 208, 568 (1965).
1316. Sidbury J., Bynum J., Fetz L., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 82, 226 (1953).
1317. Siddall J., Gross A., Fried J., J. Amer. Chem. Soc., 88, 862 (1966).
1318. Siegel M., Sisler H., Biochim. et Biophys. Acta, 103, 558 (1965).
1319. Siegel S., The Plant Cell Wall, Oxford, Pergamon Press, 1962.
1320. Siegelman H., Turner B., Hendricks S., Plant Physiol., 41, 1289 (1966).
1321. Siekevitz P., Proc. 5th Internat. Congress Biochem., Moscow (1961), 22, 219, Oxford, Pergamon Press (1963).
1322. Sijpesteijn A., Janssen M., Antonie van Leeuwenhoek, 25, 422 (1959).
1323. Sijpesteijn A., Janssen M., van der Kerk G., Biochim. et Biophys. Acta, 23, 550 (1957).
1324. Sijpesteijn A., van der Kerk G., Biochim. et Biophys. Acta, 13, 545 (1954).
1325. Sillen L., Martell A., Stability Constants of Metal-Ion Complexes, London, Chemical Society, 1964.
1326. Simon E., Nature, Lond., 166, 343 (1950).
1327. Simon E., Beevers H., Science, 114, 124 (1951).
1328. Simon E., Beevers H., New Phytologist, 41, 163 (1952).
1329. Simon E., Blackman G., Report of 3rd Symposium of the Society of Experimental Biology, Cambridge, University Press, 1949.
1330. Sinai J., Yudkin J., J. Gen. Microbiol., 20, 373 (1959).
1331. Sinclair J., Stevens B., Proc. Nat. Acad., Sci., U.S., 56, 508 (1966).
1332. Sinclair W., Science, 150, 1729 (1965).
1333. Singer E., Fischl V., Z. Hyg. infekt. Krank., 116, 36 (1934).
1334. Sinistri C., Villa L., Il Farmaco, Ed. sci. (Italy), 17, 949 (1962).
1335. Sinsheimer R., J. Mol. Biol., 1, 43 (1959).
1336. Skidmore I., Whitehouse M., Biochem. Pharmacol., 14, 547 (1965).
1337. Skou J., Prog. Biophys. Chem., 14, 131 (1964).
1338. Slade R., Chem. and Indust., 40, 314 (1945).
1339. Slater E., Kaniuga Z., Wojtczak L., Biochemistry of Mitochondria, London, Academic Press, 1967.
1340. Slater T., Nature, Lond., 209, 36 (1966).
1341. Smith C., J. Pharmacol., 116, 67 (1956).
1342. Smith E., Fed. Proc., 8, 581 (1949).
1343. Smith H., Amer. J. Physiol., 72, 347 (1925).
1344. Smith M., Smith P., The Salicylates, New York, Interscience, 1966.
1345. Smith M., Wain R., Wightman F., Ann. Appl. Biol., 39, 295 (1952).
1346. Smith S., Larson E., J. Biol. Chem., 163, 29 (1946).
1347. Smyth D., Ann. Reports Chem. Soc., London, 60, 477 (1963).
1348. Smyth D., Taylor C., J. Physiol., Lond., 136, 632 (1957).

1349. Snow G., *Biochem. J.*, **97**, 166 (1965).
1350. Society for General Microbiology. *Constituents of Bacteriological Culture Media*, Cambridge, University Press, 1956.
1351. Soloway S., *Advances in Pest Control*, **6**, 85 (1965).
1352. Somers E., Pring R., *Ann. Appl. Biol.*, **58**, 457 (1966).
1353. Somers E., Richmond D., Pickard J., *Nature, Lond.*, **215**, 214 (1967).
1354. Somers I., Shive J., *Plant Physiology*, **17**, 582 (1942).
1355. Soncin E., *Arch. int. Pharmacol. Therap.*, **94**, 346 (1953).
1356. Sonnenberg M., Money W., *Endocrinology*, **61**, 12 (1957).
1357. Spector S., Sjoerdsma A., Udenfriend S., *J. Pharmacol.*, **147**, 86 (1965).
1358. Sperber I., *Pharmacol. Rev.*, **11**, 109 (1959).
1359. Speyer J., Lengyel P., Basilio C., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **48**, 684 (1962).
1360. von Stackelberg M., *Z. Elektrochem.*, **58**, 25, 162 (1954).
1361. Stamp T., *Lancet*, **ii**, 10 (1939).
1362. Stanbury J., Wyngaarden J., *Metabolism*, **1**, 533 (1952).
1363. Stearn A., Stearn E., *J. Bact.*, **9**, 491 (1924).
1364. Stedman E., *Biochem. J.*, **20**, 719 (1926).
1365. Stedman E., *Nature, Lond.*, **159**, 194 (1947).
1366. Stedman E., Stedman E., *Biochem. J.*, **25**, 1147 (1931).
1367. Stein W., *The Movement of Molecules across Cell Membranes*, London, Academic Press, 1967.
1368. Steinert M., *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **8**, 542 (1960).
1369. Steinert M., Steinert G., *Exper. Cell. Research*, **19**, 421 (1960).
1370. Stent G., *Molecular Biology of Bacterial Viruses*, San Francisco, W. H. Freeman and Co., 1963. (Г. Стент, Молекулярная биология вирусов бактерий, изд-во «Мир», М., 1965.)
1371. Stephens C. (1963), personal communication.
1372. Stephens C., Murai K., Brunings K., Woodward R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **78**, 4155 (1956).
1373. Stephenson R., *Brit. J. Pharmacol.*, **11**, 379 (1956).
1374. Stenborg J., Chang S., Kearns C., *J. Econ. Entomol.*, **52**, 1070 (1959).
1375. Sternburg J., Kearns C., Moorefield H., *J. Agr. Food Chem.*, **2**, 1125 (1954).
1376. Stetten M., Fox C., *J. Biol. Chem.*, **161**, 333 (1945).
1377. Stewart D., Jacobs M., *HJ. Cell. Comp. Phys.*, **7**, 333 (1936).
1378. Stickings C., *Biochem. J.*, **72**, 332 (1959).
1379. Stickings C., Raistrick H., *Ann. Rev. Biochem.*, **25**, 225 (1956).
1380. Stone A., Bradley D., *J. Amer. Chem. Soc.*, **83**, 3627 (1961).
1381. Storch K., Wachsmann J., *J. Bact.*, **73**, 784 (1957).
1382. Strange R., Kent L., *Biochem. J.*, **71**, 333 (1959).
1383. Straub W., *Pflüger's Arch.*, **119**, 127 (1907).
1384. Straub W., Triendl E., *Arch. exper. Path. Pharmacol.*, **185**, 1 (1937).
1385. Strominger J., Ito E., Threnn E., *Amer. Chem. Soc.*, **82**, 998 (1960).
1386. Strominger J., Threnn R., *Biochim. Biophys. Acta*, **33**, 280 (1959).
1387. Strominger J., Threnn R., Scott S., *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**, 3803 (1959).
1388. Strominger J., Tipper D., Ensign J., Ghuysen J., Katz W., *Biochemistry*, **6**, 906, 921, and 930 (1967).
1389. Suarez G., Nathans D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **18**, 743 (1965).
1390. Subramanian D., *Proc. Indian Acad. Sci.*, **43**, 302 (1956).
1391. Sueoka N., *J. Mol. Biol.*, **3**, 31 (1961).
1392. Sulser F., Watts J., Brodie B., *Ann. New York Acad. Sci.*, **96**, 279 (1962).
1393. Sun Y., Johnson E., *J. Agr. Food Chem.*, **8**, 261 (1960).
1394. Sutherland E., Øye I., Butcher R., *Recent Prog. Hormone Res.*, **21**, 623 (1965).
1395. Sutherland K., Wark I., *Principles of Flotation*, 2nd Ed., Melbourne: Australasian Institute of Mining and Metallurgy, 1955.
1396. Sutton L. (ed.), *Tables of Interatomic Distances and Configuration in Molecules and Ions*, London, Chemical Society (1958).
1397. Sweatman W., Collier H., *Nature, Lond.*, **217**, 69 (1968).
1398. Synerholm M., Zimmerman P., *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **14**, 369 (1947).
1399. Szent-Györgi A., *Submolecular Biology*, New York, Academic Press, 1960. (А. Сент-Дьёрдьи, Введение в субмолекулярную биологию, изд-во «Наука», М., 1964.)
1400. Szent-Györgi A., Isenberg I., Baird S., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **46**, 1445 (1960).

1401. Szybalski W., Iyer V., Fed. Proc., 23, 946 (1964).
1402. Szybalski W., Opara-Kubinska Z., Ephrati-Elizur E., Fed. Proc., 19, 306 (1960).
1403. Tainter M., J. Pharmacol., 40, 43 (1930).
1404. Takamiya K., Gann. 50, 277, 291 (1959).
1405. Takamiya K., Nature, Lond., 185, 190 (1960).
1406. Takita T., Maeda K., Umezawa H., J. Antibiotics, Tokyo, A, 12, 111 (1959).
1407. Tanaka M., Nakashima T., Benson A., Mower H., Yasunobu K., Biochem. Biophys. Res. Commun., 16, 422 (1964).
1408. Tanford C., J. Amer. Chem. Soc., 74, 211 (1952).
1409. Tapley D., Cooper C., Nature, Lond., 178, 1119 (1956).
1410. Tarshis I., J. Econ. Entomol., 53, 903 (1960).
1411. Tata J., Biochim. Biophys. Acta, 87, 528 (1964).
1412. Tatum A., Cooper G., J. Pharmacol., 50, 198 (1934).
1413. Taylor J., Green A., Cori G., J. Biol. Chem., 173, 591 (1948).
1414. Taylor M., Storck R., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 52, 958 (1964).
1415. Taylor R., Amer. J. Physiol., 196, 1071 (1959).
1416. Templeman W., Sexton W., Nature, Lond., 156, 630 (1945).
1417. Templeman W., Sexton W., Proc. Roy. Soc., B, 133, 300 (1946).
1418. Thomas H., Breinl A., Mem. Liverpool School Trop. Med., № 16 (1905).
1419. Thompson P., Rinertson J., McCarty D., Bayles A., Cook A., Antibiot. and Chemother., 5, 433 (1955).
1420. Thompson R., Advances Chemother., 1, 85 (1964).
1421. Thompson R., Minton S., Officer J., Hitchings G., J. Immunol., 70, 229 (1953).
1422. Thorn M., Biochem. J., 54, 540 (1953).
1423. Thornley M., Yudkin J., J. Gen. Microbiol., 20, 365 (1959).
1424. Thorp J., The Absorption and Distribution of Drugs, Edinburgh, Livingstone, 1964.
1425. Tipper D., Strominger J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 54, 1133 (1965).
1426. Tisdale W., Williams I., U.S. Pat., 1, 972, 961 (1934).
1427. Tobias J., Nature, Lond., 203, 13 (1966).
1428. Toft D., Gorski J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 55, 1574 (1966).
1429. Tolkmith H., Ann. New York Acad. Sci., 136 (art. 3), 59 (1966).
1430. Topper Y., in «Mechanism of Action of Steroid Hormones» (C. Villee and L. Engel, eds.), Oxford, Pergamon Press (1961).
1431. Traube J., Arch. ges. Physiol., 105, 541 (1904).
1432. Traube J., Biochem. Z., 42, 470 (1912).
1433. Treble D., Lamport D., Peters R., Biochem. J., 85, 113 (1962).
1434. Tréhouël J., Tréhouël M. J., Nitti F., Bovet F., Compt. rend. Soc. Biol., 120, 756 (1935).
1435. Treherne J., J. Physiol., 133, 171 (1956).
1436. Treherne J., The Neurochemistry of Arthropods, Cambridge, University Press, 1966.
1437. Trevan J., Boock E., Brit. J. Exper. Path., 8, 307 (1927).
1438. Triggle D., Chemical Aspects of the Autonomic System, New York, Academic Press, 1965.
1439. Truffaut G., Pastac I., Fr. Pat., 425, 295; cf. Brit. Pat. App., 15, 446/33 (1932).
1440. Truffaut G., Pastac I., Chim. et Industr., 51, 79 (1944).
1441. Tsukamoto M., Casida J., Nature, Lond., 213, 49 (1967).
1442. Turnbull H., Aust. and New. Z.J. of Surgery, 14, 3 (1944).
1443. Turner W., Bauer D., Nimmo-Smith R., Brit. Med. J., i, 1317 (1962).
1444. Uhlenhuth H., Deutsch. med. Woch., 33, 1237 (1907).
1445. Ukita C., Arakawa K., Pharmaceut. Bull. (Japan), 1, 255 (in English) (1953).
1446. Underwood G., Proc. Exper. Biol. Med., 111, 660 (1962).
1447. Unna K., J. Pharmacol., 79, 27 (1943).
1448. Usherwood P., Machill P., Nature, Lond., 210, 635 (1966).
1449. Vanderlaan J., Vanderlaan W., Endocrinology, 40, 403 (1947).
1450. Varner J., Chandra G., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 52, 100 (1964).
1451. Vazquez D., Nature, Lond., 203, 257 (1964).
1452. Vazquez D., in «Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs» (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press; Biochim. Biophys. Acta, 114, 277, 289 (1966).
1453. Veldstra H., Bull. Soc. Chim. biol., 31, 1 (1949).
1454. Veldstra H., Ann. Rev. Plant Physiol., 4, 151 (1953).
1455. Veldstra H., Pharmacol. Rev., 8, 339 (1956).
1456. Veldstra H., in «Comprehensive Biochemistry» (M. Florkin and E. Stotz, eds.), Amsterdam, Elsevier (1963).

1457. Veldstra H., van der Westeringh C., *Rec. Trav. chim. Pays-Bas*, **70**, 1127 (1951).
1458. Veneziale C., Walter P., Kneer N., Lardy H., *Biochemistry*, **6**, 2129 (1967).
1459. Vermast P., *Biochem. Z.*, **125**, 106 (1921).
1460. Vianna G., *Arch. Brasil. Med.*, **2**, 422 (1942).
1461. Vickerman K., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **56**, 487 (1962).
1462. de Villiers J., Rossouw M., *Nature, Lond.*, **213**, 1208 (1967).
1463. Vinson J., Williams C., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **58**, 294 (1967).
1464. van Vloten G., Kruissink C., Strijk B., Bijvoet J., *Nature, Lond.*, **162**, 771 (1940).
1465. Voegtlin C., *Physiol., Rev.*, **5**, 63 (1925).
1466. Vogel H., *Fed. Proc.*, **18**, 345 (1959).
1467. Vogler K., *Angew. Chem., Internat. Ed.*, **4**, 966 (1965).
1468. Vogt M., in «Adrenergic Mechanisms» (J. Vane, G. Wolstenholme, and M. O'Connor, eds.), London, Churchill (1960).
1469. Volkin E., Astrachan L., *Virology*, **2**, 149 (1956).
1470. Wachsmuth E., *Nature, Lond.*, **208**, 942 (1965).
- 1470a. Wacker A., Grisebach H., Trebat A., Ebert M., Waygand F., *Angew. Chem.*, **66**, 712 (1954).
1471. Wacker A., Kirschfeld S., Weinblum D., J., *Mol. Biol.*, **2**, 72 (1960).
1472. Wacker W., Gordon M., Huff J., *Biochemistry*, **2**, 716 (1962).
1473. Waddell W., Butler T., *J. Clin. Invest.*, **36**, 1217 (1957).
1474. Waddell W., Butler T., *J. Clin. Invest.*, **38**, 720 (1959).
1475. Waddell W., Hardman H., *Amer. J. Physiol.*, **199**, 1112 (1960).
1476. Wagner J., *J. Pharm. Sci.*, **50**, 359 (1961).
1477. Wagner-Jauregg T., Hackley B., Lies T., Owens O., *Proper R., J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 922 (1955).
1478. Wain R., *Science Progress*, **176**, 604 (1956).
1479. Wain R., *Nature, Lond.*, **200**, 28 (1963).
1480. Wain R., in «The Physiology and Biochemistry of Herbicides» (L. Audus, ed.), London, Academic Press (1964).
1481. Wallach D., Zahler P., *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, **56**, 1552 (1966).
1482. Walling C., *Free Radicals in Solution*, New York, Wiley (1957).
1483. Walls L., *Chem. and Indust.*, 606 (1951).
1484. War Office, Gt Britain, *The Official History of the War: Medical Services and Surgery of the War*, Vol. I, London, H. M. Stationery Office (1922).
1485. Warburg O., *Biochem. Z.*, **119**, 134 (1921).
1486. Warburg O., *Naturwiss.*, **25**, 1 (1927).
1487. Warburg O., Christian W., *Biochem. Z.*, **314**, 149 (1943).
1488. Ward-McQuaid J., Jichlinski D., Macis R., *Brit. Med. J.*, **ii**, 1311 (1963).
1489. Waring M., *Molec. Pharmacol.*, **1**, 1 (1965).
1490. Waring M., *Biochim. Biophys. Acta*, **114**, 234; also in *Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs* (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press (1966).
1491. Waring W., Werkman C., *Arch. Biochem.*, **1**, 303 (1942).
1492. Waser P., *J. Pharm. Pharmacol.*, **12**, 577 (1960).
1493. Waser P., *Pharmacol. Rev.*, **13**, 465 (1961).
1494. Waser P., in «Enzymes and Drug Action» (J. Mongar and A. de Reuck, eds.), London, Churchill (1962).
1495. Watanabe T., *Bact. Rev.*, **27**, 87 (1963).
1496. Waters W., *Chemistry of Free Radicals*, Oxford, University Press, 1948.
1497. Watkins J., *J. Theoret. Biol.*, **9**, 37 (1965).
1498. Watson J., Crick F., *Nature, Lond.*, **171**, 737 (1953).
1499. Watson P., *J. Pharm. Pharmacol.*, **12**, 257 (1960).
1500. Watters J., de Witt R., *J. Amer. Chem. Soc.*, **82**, 1333 (1960).
1501. Watts D., Rabin B., *Biochem. J.*, **85**, 507 (1962).
1502. Weber M., Kinsky S., *J. Bact.*, **89**, 306 (1965).
1503. Wecker E., *Nature, Lond.*, **197**, 1277 (1963).
1504. Weidel W., Frank H., Martin H., *J. Gen. Microbiol.*, **22**, 158 (1960).
1505. Weinberg E., *Antibiot. and Chemother.*, **4**, 35 (1954).
1506. Weinberg E., *Bact. Rev.*, **21**, 46 (1957).
1507. Weiner I., Levy R., Mudge G., *J. Pharmacol.*, **138**, 96 (1962).
1508. Weissbach A., Lisio A., *Biochemistry*, **4**, 196 (1965).
1509. Weissberger A., Lu Valle S., *J. Amer. Chem. Soc.*, **66**, 700 (1944).
1510. Weitzel G., Engelmann J., Fretzdorff A.-M., *Z. physiol. Chem.*, **315**, 236 (1959).
1511. Weitzel G., Spehr T., *Z. physiol. Chem.*, **313**, 212 (1958).
1512. Welch A., *Cancer Res.*, **21**, 1475 (1961).

1513. Welch A., Prusoff W., Cancer Chemother. Reports, **6**, 29 (1966).
1514. Wellman R., McCallan S., Contr. Boyce Thompson Inst., **14**, 151 (1946).
1515. Welsh J., Johns Hopkins Hosp. Bull., **83**, 568 (1948).
1516. Welsh J., Taub R., J. Pharmacol., **99**, 334 (1950).
1517. Wendel H., Fed. Proc., **23**, 387 (1964).
1518. Werk E., MacGee J., Sholiton L., J. Clin. Invest., **43**, 1824 (1964).
1519. Werkheiser W., Cancer Res., **23**, 1277 (1963).
1520. West T., Campbell G., DDT, The Synthetic Insecticide, London, Chapman and Hall, 1946.
1521. Wettingfield R., Rowe J., Eyles D., Ann. Int. Med., **44**, 557 (1956).
1522. Wettstein F., Stachlin T., Noll H., Nature, Lond., **197**, 430 (1963).
1523. Weyter F., Broquist H., Biochim. Biophys. Acta, **40**, 567 (1960).
1524. White J., Dearman H., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **54**, 887 (1965).
1525. White P., Woods D., J. Gen. Microbiol., **40**, 255 (1965).
1526. White R., Standen O., Brit. Med. J., **ii**, 755 (1953).
1527. Whitehouse M., Biochem. Pharmacol., **13**, 319 (1964).
1528. Whitehouse M., Dean P., Biochem. Pharmacol., **14**, 557 (1965).
1529. Whittaker V., Physiol. Rev., **31**, 312 (1951).
1530. Whittaker V., Biochem. Soc. Symp., **23**, 109 (1963).
1531. WHO, World Health Organization Chronicle, **20** (1966).
1532. Wiberger J., Neuman W., Arch. Biochem. Biophys., **72**, 66 (1957).
1533. Wiesner K., Valenta Z., Findley J., Tetrahed. Let., **221** (1967).
1534. Wigglesworth V., Nature, Lond., **210**, 759 (1966).
1535. Wilbrandt W., Arch. exper. Path. Pharmacol., **212**, 9 (1950).
1536. Wilbrandt W., J. Pharm. Pharmacol., **11**, 65 (1959).
1537. Wilbrandt W., Rosenberg T., Pharmacol. Rev., **13**, 109 (1961).
1538. Wilkins M., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **21**, 75 (1956).
1539. Wilkins R., J. Chem. Soc., 4475 (1962).
1540. Wilkinson J., Microbial Physiology and Continuous Culture, London, H. M. Stationery Office, 1966.
1541. Wilkinson R., Cantrall C., Shepherd R., J. Med. Pharm. Chem., **5**, 835 (1962).
1542. Wilkinson S., Lowe L., Nature, Lond., **212**, 311 (1966).
1543. Willey G., Brit. J. Pharmacol. Chemother., **10**, 466 (1955).
1544. Williams R. J. P., J. Chem. Soc., 3770 (1952).
1545. Williams R. T., Detoxication Mechanisms, 2nd Ed., London, Chapman and Hall, 1959.
1546. Williamson J., Brit. J. Pharm. Chemother., **14**, 443 (1959).
1547. Williamson J., Macadam R., Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., **59**, 367 (1965).
1548. Wilson A., Harris S., J. Amer. Chem. Soc., **71**, 2231 (1949).
1549. Wilson C., J. Econ. Entomol., **42**, 423 (1949).
1550. Wilson I., Fed. Proc., **18**, 752 (1959).
1551. Wilson I., in «Enzymes and Drug Actions» (J. Mongar and A. de Reuck, eds.), London, Churchill (1962).
1552. Wilson I., Bergmann F., J. Biol. Chem., **186**, 682 (1950).
1553. Wilson I., Cahib E., J. Amer. Chem. Soc., **78**, 202 (1956).
1554. Wilson I., Harrison M., Ginsburg S., J. Biol. Chem., **236**, 1498 (1961).
1555. Wilson I., Meislich E., J. Amer. Chem. Soc., **75**, 4628 (1953).
1556. Wilson S., Vet. Rec., **61**, 395 (1949).
1557. Winder F., Denneny J., Biochem. J., **73**, 500 (1959).
1558. Winteringham F., Chem. and Indust., 1195 (1957).
1559. Winteringham F., J. Roy. Soc. Arts., **110**, 719 (1962).
1560. Winteringham F., Barnes J., Physiol. Rev., **35**, 701 (1955).
1561. Winteringham F., Loveday P., Harrison A., Nature, Lond., **167**, 106 (1951).
1562. Wintersteiner O., Stavely H., Dutcher J., Spielman M., in «The Chemistry of Penicillins» (H. Clarke, J. Johnson and R. Robinson, eds.), Princeton, University Press, 207 (1949).
1563. Wise E., Park J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **54**, 75 (1965).
1564. Wohl A., Glimm E., Biochem. Z., **27**, 349 (1910).
1565. Wolfe A., Hahn F., Science, **143**, 1445 (1964).
1566. Wolfe A., Hahn F., Biochim. Biophys. Acta, **95**, 146 (1965).
1567. Wood J., Wolfe W., Irving G., Science, **106**, 395 (1947).
1568. Wood R., Ferone R., Hitchings G., Biochemical Pharmacol., **6**, f13 (1961).
1569. Wood R., Hitchings G., J. Biol. Chem., **234**, 2377 (1959).
1570. Woodin A., Biochem. Soc. Symp., **22**, 126 (1963).
1571. Woodroffe R., Wilkinson B., J. Gen. Microbiol., **44**, 343 (1966).



1572. Woodruff H., in «Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs» (B. Newton and P. Reynolds, eds.), Cambridge, University Press (1966).
1573. Woods D., Brit. J. Exper. Path., **21**, 74 (1940).
1574. Woods D., J. Gen. Microbiol., **29**, 687 (1962).
1575. Woods D., Biochem. J., **89**, 4P (1963).
1576. Woodson B., Joklik W., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **54**, 947 (1965).
1577. Woodward R., Neuberger A., Trenner N., in «The Chemistry of Penicillin» (H. Clarke, J. Johnston and R. Robinson, eds.), Princeton, University Press, 438 (1949).
1578. Wooley D., J. Amer. Chem. Soc., **72**, 5763 (1950).
1579. Wooley D., A. Study of Antimetabolites, New York, Wiley, 1952.
1580. Wooley D., Stewart J., Biochemical Pharmacol., **11**, 1163 (1962).
1581. Wooley D., Strong F., Madden R., Elvehjem C., J. Biol. Chem., **124**, 715 (1938).
1582. Work E., J. Gen. Microbiol., **25**, 167 (1961).
1583. Wright H., Hirschfelder A., J. Pharmacol., **39**, 30 (1930).
1584. Wright S., The Metabolism of Cardiac Glycosides, Springfield, Ill, Thomas, 1960.
1585. Wyatt G., Cohen S., Biochem. J., **55**, 774 (1953).
1586. Wyatt G., Kalf G., J. Gen. Physiol., **40**, 833 (1957).
1587. Wyss O., Rubin M., Strandskov F., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **52**, 155 (1943).
1588. Wyss O., Stockton J., Arch. Biochem., **12**, 267 (1947).
1589. Wyss O., Strandskov F., Ann. Biochem., **6**, 261 (1945).
1590. Yagi K., Advances Enzymol., **27**, 1 (1965).
1591. Yagi K., Ozawa T., Biochem. Biophys. Acta, **81**, 29 (1964).
1592. Yarmolinsky M., de la Haba G., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **45**, 1721 (1959).
1593. Yendell A., Tupper R., Wills E., Biochem. J., **102**, 23 P (1967).
1594. Yorke W., Adams A., Murgatroyd F., Ann. Trop. Med. Parasit., **23**, 501 (1929).
1595. Yorke W., Murgatroyd F., Hawking F., Ann. Trop. Med. Parasit., **25**, 351 (cf. Yorke, W., and Murgatroyd, F. (1930), *ibid.*, **24**, 449 (1931)).
1596. Youatt J., Austral. J. Exper. Biol., **36**, 223 (1958).
1597. Yudkin M., Davis B., J. Mol. Biol., **12**, 193 (1965).
1598. Zachau H., Dütting D., Feldmann H., Angew. Chem., **78**, 392, 600 (1966).
1599. Zamecnik P., Stephenson M., Scott J., Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., **46**, 811 (1960).
1600. Zanker V., Schnith H., Chem. Ber., **9**, 2210 (1959).
1601. Завойский Е., Учен. зап. наук, **9**, 211 (1945).
1602. Zeidler O., Ber. deutsch. Chem. Ges., **7**, 1180 (1874).
1603. Zeller E., Ann. New York Acad. Sci., **107** (art. 3), 811 (1963).
1604. Zentmyer G., Science, **100**, 294 (1944).
1605. Zerahn K., Acta Physiol. Scand., **36**, 300 (1956).
1606. Ziegler-Günder I., Simon H., Wacker A., Z. Naturforsch., **11b**, 82 (1956).
1607. Zimmerman E., Greenberg S., Mol. Pharmacol., **1**, 113 (1965).
1608. Zimmerman P., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **10**, 152 (1942).
1609. Zwolinski B., Eyring H., Rees C., J. Phys. Colloid Chem., **53**, 1426 (1949).

# Предметный указатель

- Абсизин II 61  
Агонисты 138, 141  
— частичные 140  
Адамантаны 245  
Аденнлциклаза 339  
Аденин 39, 274  
Аденозинфосфаты, в клеточных структурах 30, 32, 36, 73  
— роль в мышечном сокращении 261  
— в переносе калия и натрия 73, 135  
— в проведении нервного импульса 135, 138  
— в фотосинтезе 57  
— связывание металлов 261  
Адреналин (Эпинефрин) 137, 145, 156, 159, 177  
— оптические изомеры 332, 333  
Адсорбция 166—168  
— неспецифическая 225  
— специфическая 225, 226  
8-Азагуанин 124, 325  
Азаоксины 291, 292  
Азасерин 197  
6-Азауридил 326  
Азауридин 91  
Азетидин-2-карбоновая кислота 325  
Азот, метаболизм 50  
— наркотическое средство 375  
Азотистые основания, интеркаляция 239  
Аконитаза 267  
Акридины 228  
— антибактериальное действие 104, 105  
— бактериостатический индекс 382  
Акридины, конкуренция с ионами водорода 231, 232  
— место воздействия на бактерии 232, 233  
— противомалярийное действие 104, 105, 243, 244  
— резистентность 125, 126  
Акрифлавин 105, 229, 343  
Активный перенос (транспорт) через мембраны 73  
Актидион, см. Циклогексимид  
Актиномидины 41, 110, 143  
Алистеразы 124  
Алкалоиды 94, 131, 142, 146, 152, 160, 246  
Алкилирующие агенты 320—324  
Алкоголдегидрогеназа 168, 308, 343  
Аллилнорморфин 203  
Аллоксантин 198  
Аллопурипол 198  
Альбумин, связывание лекарственных веществ 81  
Альдегидоксидаза 260  
Альдолазы 59, 266, 328  
Альдрия 63, 115, 158, 159, 325  
Амблхар (Нпридазол) 114  
Амебиаз, лечение 113, 114, 300, 376  
Аметоптерин 125, 191, 192  
Амидины алифатические 160  
Амилаза 177  
Амиловые спирты 205, 206  
Аминоакридины 41  
— антибактериальное действие 228, 230—234  
— степень ионизации 229, 230  
п-Аминобензойная кислота (ПАБ) 109, 124, 125, 325  
— — антагонисты 185, 186  
— — индекс пигментирования 182  
— — константа ионизации 185  
— — роль в метаболизме бактерий 187  
4-Аминоимидазол-5-карбоксамид 189  
Аминокислоты 26, 50  
— — антагонисты 178, 190, 197, 198  
— включение в белок 324, 325  
— ионизация 222  
— последовательность в адренокортико-тропных гормонах 62  
— — в ферментах 45, 175  
— — в цитохроме с 60  
D-Аминокислоты 50  
γ-Аминомасляная кислота 154, 199  
Аминоптерин 191, 192  
п-Аминосалициловая кислота 111, 190, 325  
3-Аминотриазол (Амитрол) 58, 197  
1-Аминоциклопентан-1-карбоновая кислота 196  
Амины алифатические 156, 208, 241, 245  
— — дучетвертичные (бис-четвертичные) 149, 150, 353  
— — четвертичные, ионизация 216, 227, 246  
Амитал, см. Барбитураты  
Амитрол 197  
Ампициллин (Пенбритин) 313  
Ампролий 196  
Амфетамин (Бензедрин) 154, 156, 211  
Амфифильные вещества 357  
Амфотерапин 110, 364  
Аналоги метаболитов (Антиметаболиты) 191, 194, 195  
— — антагонистическое действие 176, 178—180  
Аналоги метаболитов, ковалентные связи 202  
— — неконкурентный антагонизм 189, 202, 203  
Анальгезирующие средства 152, 153, 355  
Анемия 258  
— гемолитическая 204  
— макроцитарная 194  
Анестезия, 131, см. также Наркоз и Местноанестезирующие средства  
— спинномозговая 154  
Ангидраза угольной кислоты, см. Карбоангидраза  
Ангилостомидоз 113  
Антагонисты 140  
— аналоги, создание 177, 178, 194  
— не являющиеся аналогами 203  
Антерга 199

- Антибиотики 109—111  
— подлинные 364  
Антигельминтные препараты 98, 113, 119, 359  
Антигены и антитела 99, 100, 164  
Антигистаминные, топизация 199  
Антигистаминные средства 246  
Антидоты 281, 282, 319  
Антизан (Нсоантерган, Мепирамин) 199  
Антикоагулянты 88, 204  
Антиметаболиты, см. Аналоги метаболитов  
Антимикробные препараты 132  
Антимидия 56, 297  
Антипротозойные средства 241  
Антраценгликозид 89  
Антрилгуанидин 239  
Апоферменты 173  
Ареколины 246, 349, 351  
Арсенамин (Сальварсан) 102, 304, 307  
Аскорбиновая кислота 129, 224  
Асперидловая кислота 292  
Атеросклероз 17  
Атоксил 101, 105, 186, 187  
Атразин 207  
Атрактиловая кислота 56  
Атрактанты 15  
Атропин 144—148, 177, 352  
Ауксины, см. также Индол- и Феноксипус-  
сусные кислоты 117  
Ауреомизин 48, 110  
Афлатоксин 42  
Апетазоламид (Диамокс) 200, 201  
л-Апетамидофенол 89  
Апетанил 89, 132  
Апетарсол 304, 307, 308  
Апетил-КоА 54  
Ацетил- $\beta$ -метилхоллин (Метахолин) 332, 338, 344  
Апетилмурамовая кислота 25, 308, 310  
Апетилхолин 133, 136, 183, 246, 343—345, 349  
— антагонисты 146, 149—151  
— взаимодействие с рецептором 146, 342, 352  
— гидролиз 342, 343  
— места действия 137, 154, 342—355  
— механизм действия 29, 139, 145, 342—355  
Ацетилхолинэстераза 60, 151, 183, 316  
— активный центр 175, 342, 343  
— ингибиторы 316, 319  
  
Бактерии, действие антибиотиков 25, 40, 45—50, 61, 109, 110, 294, 299, 308—314  
— — олеиновой кислоты 360  
— метаболизм углеводов 53  
— проницаемость для чужеродных ве-  
ществ 79  
— структура и компоненты 25, 26—33, 40, 54  
— устойчивость к лекарственным препара-  
там 120—127  
Бактериофаги, см. Фаги  
Барбан 119  
Барбитал (Веронал) 131, 379  
Барбитураты 75, 87, 131, 248, 252, 379  
Барий 203  
Бацилляция 25, 110, 294, 309, 314  
  
Белки 42—51, 81, 168, 173, 174, см. также  
Ферменты  
— подавление биосинтеза 45—49  
— оптические изомеры 331, 332  
— чужеродные 324  
Белладонна 131  
Бемегрид (Мегимид) 142, 154, 380  
1,2-Бензантрацен 213  
Бензидобензоат 115  
Бензидипенициллин 313  
Бензоакридины 235, 237  
Бензойная кислота 252, 335  
Бензохинолины 235, 237  
Бериллий 284  
Бетамидин 157  
Бетепий (Алкопар) 113  
Биаллизамикод (Камоформ) 67, 113, 300  
Бильгарциоз, см. Шистосоматоз  
Биоптерин 190  
Биотин 178, 195  
Блокирование последовательное 201  
Бомбикол 15  
Бор 21  
Бордоская жидкость 116  
Борная кислота, кривая титрования 220  
Бретилий 330  
Бриллиантовый зеленый 212  
Бром 328  
Бромацил 119  
5-Бромурацил 325  
Брунсеомидин 42  
Бруцеллез 17  
Бусульфам (Мильберан) 321  
Бутарсен 308  
Буферы 219, 266  
  
Вакуоли 30  
Валпиномицин 261  
Ванадий 260, 302  
Вандерваальсовы взаимодействия (связи,  
силы) 162, 163, 207, 236, 329, 330, 353,  
355, 357  
— радиусы 179, 236  
Ванкомицин 25, 309, 314  
Величина Шильда  $pA_x$  203, 204  
Веронал, см. Барбитал  
Виомицин 110  
Вирусы 17, 35, 245, 297, 325, 327  
Висмут 104, 308  
Витамин  $B_{12}$ , см. Кобаламины  
— Е 365  
— К 57, 161, 196  
Витамины, аналоги метаболитов 179, 184  
— группы В 21  
— токсичность 14  
Вода, роль в действии депрессантов 377  
— структура 377  
Водородные связи 164, 165, 205, 377  
Волютин, гранулы 35  
Воспалительные процессы 56  
  
Галламин 151, 246  
Галоксон 60, 318, 319  
Галоперидол (Серенас) 199  
Галотан 371  
Ганглии 137, 157  
Гангрена газовая 187  
Гаптоформные группы 100  
Гексаметоний 146, 150, 352  
Гексахлорофан 296, 297, 363

- Гексилрезорцин 360, см. также Фенолы  
 Гексокиназы 59  
 Гельминтоспорин 267  
 Гематоксиллин 302  
 Гемидцеллюлозы 24  
 Гемоглобин 44, 183, 259  
 Гептахлор 86, 325  
 Гербициды 57, 117—119, 197, 251  
 — блокирование фотосинтеза 57  
 — растворимость в воде 207  
 — свободные радикалы 366  
 — цианофенольные 118  
 Гетероауксин, см. Индолилуксусная кислота  
 Гиббереллины 61, 144  
 Гемато-энцефалический барьер 78, 154  
 Гемихоллингии 156  
 Гидразины 199, 328  
 Гидразоны 296  
 Гидралазин 300  
 Гидратация ковалентная 208—210  
 Гидроксилламини 319, 325  
 Гикантон 215  
 Гипоксантин 198, 274  
 Гипотеза Белло 198  
 — истощения органического субстрата 143  
 — наркоза Овертона-Мейера 370  
 — орто-хиноидная Пьюлманов 213  
 — Пейтона 141  
 — Уленгута 102, 103  
 Гистамин 136, 137, 199, 200, 222, 267  
 — антиметаболиты 199, 224, 253  
 — прямое действие на мышцу 159  
 — связывание металлов 274, 300  
 Гистидин 222, 264, 274  
 Гистоны 143  
 Гликозиды сердечные 72, 160  
 Гликолиз анаэробный 52  
 Глионин 117, 362  
 Глицин 154, 264, 272  
 Глобулины 81  
 Глутаминовая кислота 154, 157, 174, 380  
 Гомидий (Этидий) 239, 243  
 Гомологические ряды, изменение активности 207  
 Гормональные препараты 211  
 Гормоны 61, 179  
 — животных 62, 143, 144, 368  
 — — антагонисты 160  
 — насекомых 62, 63  
 — растений 61, 144, 301, 334, 335, см. Фенолуксусные кислоты  
 Грамицидин 361  
 Гранулы в клетках 34  
 Грибы 25, 29, 54, 252, 267  
 Гризеофульвин 110  
 Гуанетидин 156, 157  
 Гуанидин 160, 245  
 Гуанин 39, 190, 326  
 — связывание актиноидином 41, 144  
 — метилирование 40  
 Гуанозин 37, 190  
 — комплексы с металлами 274  
 Далапон (Даупон) 119, 196  
 Даксон 186, 187  
 Дараприм, см. Пириметамин  
 Дегидрохлориназа 123  
 Дезипрамин (Пертофран) 90  
 Дезокспиридоксин 179  
 Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) 32—39, см. также Нуклеиновые кислоты — и резистентность к лекарственным препаратам 125  
 Дезферриоксамин 284  
 Дейтерий, метка 124  
 Декаметоний 150, 354  
 Денполяризация 136, 137, 150, 166  
 Депрессанты 131, 153, 154, 370—381  
 Детриобиотия 195  
 Дефолланты 15, 119  
 Днаверидин 193, 194  
 Диазинон 317, 318, см. также Инсектициды  
 Диамидины 112  
 Диаминопимелиновая кислота 26  
 Диализон 317  
 Дибенамин 133, 146, 198, 339, 341  
 Дибутилфталат 115  
 Дигидрофолатгидрогеназа 59, 122, 192—194  
 Дигидрофолатсинтетаза 187  
 Динизопропилфторфосфат (Дифлос) 315, 319  
 Дикват 366  
 Дикофан (ДДТ) 93, 115, 116, 123, 158  
 Диктиосомы 34  
 Дикумарол 195, 196, см. также Антикоагулянты  
 Дильдрин 115, 158  
 Димеркапрол 283, 306  
 Диметилбутилацетат 343, 344  
 Диметилдитиокарбамининовая кислота (ДМДК) 215, 270, 293, 294  
 Диметилфталат 115  
 Диметоат 317—319  
 Димидий 112  
 Диодон 22  
 Диоксалаины 350  
 Диоксан 272  
 2,2-Дипиридил, комплексы с металлами 269, 274, 281, 301  
 Диссоциация, см. Ионизация  
 Дисульфидаза 25  
 Дисульфирам 294  
 Дитион 264  
 Дитиокарбаматы, стабильность 116, 214, 215  
 — комплексы с медью 270, 274  
 — механизмы действия 293  
 Дитиолы 306  
 Дитофал 91  
 Диуретаны 74  
 Дифенил 236  
 Диффузия, кинетика 72  
 Дихлорон 195  
 Дихлорвос 317, 318  
 Дихлоризопреналин 146, 198  
 2,2-Дихлорпропиононовая кислота (Допалон) 119  
 Диптазин (Дипакол) 153  
 Додин 117, 362  
 Доза оптимальная, вычисление 97  
 Допамины 62, 156  
 Енолаза мышечная 265  
 Жгутниковые 241, 263  
 Желудок, проницаемость тканей 75  
 Железо, комплексы 274, 276, 290, 292, 293  
 — микроэлемент 259, 262, 268

- Железо, окислительно-восстановительные потенциалы 279  
— токсичность 282  
Железосодержащие ферменты 60; 259  
Желчь 78  
Жиры, см. также Липиды  
— окисление 54
- Зеатин 61  
Золото 283
- Изатинтiosoмикарбазон 297  
Избирательность за счет различий в распределении 20, 22, 37  
— теоретические основы 17—20  
Изомерия геометрическая 334, 335  
— оптическая 331  
Изоплазмид 111, 126, 204, 274, 280, 295, 296  
Изопреналин 332, 341  
Изотерма адсорбции Ленгмюра 138, 167, 168, 201  
Изотиоцианаты 215  
Изоферменты 173  
Имидазол 197  
Иммунотерация 16, 99  
Имипразин (Тофранил) 90  
Индекс ингибирования 180—182  
— химиотерапевтический 102  
Индолуксусная кислота 144, 211, 301, 334  
Инозиповая кислота 189, 327  
Инозит, см. Миноинозит  
Инулин 78  
Инсектициды 114, 116, 158  
— карбаматы 319, 320  
— общего действия 319  
— синергизм 86  
— Фергюсона принцип 372  
— фосфорорганические 115, 158, 318  
— хлорированные 63, 79, 88, 123, 158, 159, 325  
Интеркаляция 239  
Интерферон 114  
Иод, избирательное накопление 21, 73  
— конкуренция с другими анионами 177  
— механизм антибактериального действия 328  
Иодацетамид 203  
Иоддезоксигуанидин 327  
Иодурацил 325, 327  
Иоксинил (Актрил) 118  
Ион-дипольные взаимодействия 166  
Ионизация, влияние алкильных групп 241  
— — ионов и нейтральных молекул 223  
— связь с биологическим действием 228  
— уравнения 218, 219  
Ионные пары 164  
— связи 164  
Ионообменная кислота 22  
Иприты азотистые 320, 321  
— сернистые 320  
Итоевая кислота 266, 267
- Кадаверин 265  
Кадмий 260  
Калий 43, 134, 135, 261, 262  
— перманганат 328  
Кальций 183, 262
- Кальций, регулирование проницаемости мембран 30, 260, 302  
— роль в проведении нервного импульса 135  
— сродство к хелатирующим агентам 268, 277, 278  
Канцерогенные вещества 82, 213, 324, 325  
Кантан 117  
Карбамзин (Хетразин) 113, 114  
Карбаматы 119, 319  
Карбазон 104, 105  
Карбахол 183, 246, 319, 320  
Карбимазол 90  
Карбоангидраза 45, 200, 201, 260  
Карбоксипептидаза 174  
Карбонилсульфид 117  
Каризопродол 84  
Каропамид 86  
Касторовое масло 91  
Каталаза 174  
Каталисомы 33  
Катехоламинорецепторы 338  
Катехоламины 198, 199  
Катионы, неорганические, конкуренция 177, 206, 303  
— прохождение через мембраны 226  
Кинетика Михаэлиса — Ментен 175  
Кинетопласты 33  
Кинины 61, 258  
Кислоты, алифатические 168, 277, 291  
— константы ионизации 217, 388  
— сравнительная сила 220  
— токсическое действие 252  
Клатратные структуры 378  
Клетки, размеры, ультраструктура 22, 23  
Клеточные стенки 24—27  
Клинические испытания 9, 113, 114  
Клоксациллин 143  
Кобаламины (Витамины B<sub>12</sub>) 21, 179, 196, 258  
Кобальт 287—289  
Ковалентные связи 162, 165  
Коденин 89  
Кожа 77  
Койевая кислота 267, 294  
Кокаин 132, 147, 249, 251  
Кокцидиоз 112, 193  
Комплексы жесткие (robusts) 280  
— с переносом электрона (заряда) 166  
— Целлера 141  
Колхицин 18, 381  
Константа Брингса — Холдейна 181  
— Гаммета 187, 462  
— Михаэлиса 181  
— кислотности K<sub>a</sub> 218  
— стабильности 223  
— устойчивости комплексов 274  
Конформации (аксиальные) 337  
— гош 337  
— заторможенная (транс) 337  
— экваториальная 337  
«Кооперативный» эффект 281  
Кортикостероиды 56, 144, 211, 300  
Кортизон 15  
Кофенин 154, 339  
Коферменты 60, 173  
— кобальтовые 258  
Красители 99, 165, 169, см. также Акридин и Трифенилметан  
— трифенилметановые 120, 211, 227, 241

- Красители трифенилметановые, антибактериальная активность 228  
 Красители трифенилметановые, терапевтическая интерференция 127, 128  
 Крашение 169  
 Креатинкиназа 265, 338  
 Кремний 362, 381  
 Кристаллический фиолетовый 223, 231  
 Крилидин 33  
 Кровеносная система, проницаемость капилляров 77  
 Кровь, плазма 77, 81, 97  
 Ксантоптерин 190, 191  
 Ксантиоксидаза 198, 260  
 Ксенон, анестезирующее действие 376  
  
 Лакказа 258  
 β-Лактамаза (Пенициллиназа) 122  
 Лактатдегидрогеназа 59  
 Лактезин 149, 352  
 Лейкоз 191, 192, 321, 327  
 — резистентность 121—124  
 Лейшманиоз 104, 105, 112, 243  
 Лекарственные вещества 102, 107  
 — — — внутренняя активность 139  
 — — — всасывание 66, 75—79  
 — — — выведение из организма 66, 67, 78, 96, 97  
 — — — изменения в процессе метаболизма 82—85  
 — — — катيونные 237  
 — — — кинетика действия 96, 141, 142  
 — — — латентное действие 91, 323  
 — — — период полужизни 96  
 — — — противовирусные 245, 297  
 — — — противовоспалительные 56, 243  
 — — — противоглистные 59, 104, 105, 308  
 — — — противомаларийные 193  
 — — — противотуберкулезные 190, 296, 363  
 — — — противораковые 192, 214, 320—323  
 — — — противозидептические 381  
 — — — средство к рецептору 139  
 — — — устойчивость к сульфамидам 125  
 — — — — к тетрациклинам 127  
 — — — фармакодинамические 17, 144  
 — — — физические свойства 162  
 — — — эффективность 140  
 Лептазол 154  
 Летальный синтез 324—327  
 Лиганды, бидентатные 269, 270, 273  
 — обратная двойная связь 277  
 — потенциометрическое титрование 271  
 — серосодержащие 270  
 — электростатическое поле 274  
 Лигнокаин (Ксилокаин) 154  
 Лизосомы 34  
 Лизоцим 26, 36, 44, 174  
 Лимитирующий фактор 10  
 Лимфогранулематоз 16, 320  
 Лишдан (γ-Бензолгексахлорид) 158, 159, 196  
 Линкомицин 47  
 Лишиды 28, 35  
 — «места потерь» 80  
 — метаболизм 54  
 Липоевая кислота 293  
 Липопротеиды, связывание лекарственных веществ 81  
 Литий 262  
 Лобелин 144, 154  
  
 Ломбрицин 50  
 Лукантон 215  
  
 Магний 34, 36, 261  
 — антагонист кальция 262  
 — средство к хелатирующим агентам 268, 274, 277, 278  
 Макрофаги 362  
 Малатин 316—318, см. также Инсектициды фосфорорганические  
 Малахитовый зеленый 212  
 Маленовая кислота, гидразид 80  
 Малоновая кислота 177, 182, 183, 225  
 Малярия 9, 16, 104, см. также Противомаларийные препараты  
 Марганец 259  
 — средство к хелатообразующим агентам 268, 274, 278, 279, 302  
 Марфанил (Сульфамилон) 187, 188  
 Мафарсен, см. Оксофенарсин  
 Мегимид, см. Бемеград  
 Медь 258, 262, 263  
 — комплексы 270, 274, 278, 279  
 Мекамиламин 146, 246  
 Мелфелан 321  
 Мембраны, потенциал 134, 135  
 — проницаемость для ионов 226  
 — регуляция всасывания 71, 75, 116  
 — четыре типа 70—75  
 Меназон 317, 318  
 Менафтон 210, 211  
 Мепакрин 112, 243, 244  
 Меперидин, см. Петидин  
 Мепирамин 199  
 6-Меркаптопурин 85, 124, 326, 327  
 «Места потерь» 80, 202  
 Местноанестезирующие средства 132, 147, 155, 246, 332, 362  
 Метаболиты, см. Аналоги метаболитов  
 Метадон 152  
 Металлы, антагонизм катионов 262  
 — двухфазный эффект 262  
 — избирательность связывания 264  
 — ионные радиусы катионов 277  
 — средство к хелатирующим агентам 268  
 Метанол 94, 177  
 Метенамин 89  
 Метизазон (Марборан) 298  
 α-Метилдопа 198  
 α-Метилтирозин 198  
 О-Метилтрансфераза 156  
 Метилхолантрен 143  
 Метилыные группы, влияние на биологическое действие 205—211  
 — — — на растворимость 205, 206  
 Метинин и его антагонисты 190, 197, 325, 326  
 α-Метиприлон (Нолудар) 380  
 Метимазол (Мерказол) 94  
 Метиридин (Проминтик) 113  
 Метициллин (Селбенин) 122, 313  
 Метод Лайнувера — Берка 181  
 — экстракция понов 164  
 Метоксин, гербицид 118  
 Метотрескат (Аметоптерин) 121, 191, 192, 323  
 Метронидазол 112  
 Мефенезин 153  
 Микобактин Т 266  
 Миксовирусы 36

- Микросомы 31, 83  
 Микротрубочки 34  
 Минералы, флотация 171  
 Миоглобин 44  
 Миоинозит 29, 196  
 Митоз, подавление 370, 381  
 Митоминци 42, 323  
 Митохондрии 28, 31, 73  
 — структура и функции 31—33  
 Митраминци 42, 110  
 Мицеллы 129, 208, 358—360  
 Молибден 260  
 Моллюски, средства уничтожения 15, 119, 120  
 Моноаминоксидаза 156, 198  
 Монурон 58  
 Морфин 89, 144, 151, 152, 203  
 — место действия 131, 355, 356  
 Мочевая кислота 51, 198, 246  
 Мочевина 50, 51, 131  
 Мукопептид 25, 308  
 Мурамовая кислота см. Ацетилмурамовая кислота  
 Мурени 25, 26  
 Муросептид 25, 312  
 Мускарии 146, 344—347, 350  
 Мустин 320, 321  
 Мышцы, конечная пластинка 136  
 — прямое действие лекарственных веществ 159  
 Мышьяк, препараты 88, 106, 120, 187, 303—308  
 Набам 92, 117, 215  
 Налидиксидовая кислота 111  
 Наркоз, см. также Анестезия  
 — лиоидная гипотеза 436  
 — теория Полинга 378  
 Наркотические средства 131, 153, 249, 370  
 Насекомые, см. также Инсектициды  
 — метаболизм 50, 52, 57, 62, 63  
 — нервная система 157  
 — репелленты 115  
 Насос калиевый и натриевый 135  
 Натрий 73, 134, 135, 261  
 1,4-Нафтохинон 212  
 Нафцилин 313  
 Нейраминаза 36  
 Нейрогормоны, механизм действия 29, 338—342  
 — основные типы 136  
 Нематоды 119, 318  
 Неомидин 110  
 Неостигмин (Простигмин) 151, 246  
 Нервная система автономная, диаграмма 137  
 — — центральная, действие лекарственных препаратов 153, 154  
 — — — схема 134, 157  
 Нервный импульс, распространение 135, 157  
 Нервные волокна, периферические 154  
 — клетки 371, 376  
 — окончания, периферические 155—159  
 — — ганглионарные 137, 146, 153—160  
 Нервно-мышечное соединение 134, 136, 137  
 Нефрон 77, 78  
 Никель, комплекс с глицином 272  
 Никотин 142, 146, 246, 350, 351  
 Никотинамидаденилиндуклеотид (НАД) 31, 51—54, 57, 212, 337  
 Никотиновая кислота, аналоги 184  
 Нипридазол 113  
 Нистатин 110, 364  
 Нитрозамины 324  
 Нитроксинил 114  
 Нитромины 322, 323  
 Нитрофенолы 56, 151  
 Нитрофуразон 113  
 Нитрофурантоин 112  
 Новобиоин 25, 110, 309, 314  
 Норадrenalин 145, 146, 154, 156, 198, 267  
 — ионизация 222  
 — механизм действия 338—342  
 — связывание металлов 300  
 — синаптический медиатор 136, 137, 154  
 Норбор 64  
 Нуклеиновые кислоты, см. также РНК и ДНК  
 — — биосинтез 39—48  
 Нуклеотиды 302, 312  
 К-Область 213  
 N-Окиси 292, 293  
 Окислительно-восстановительные потенциалы 212, 279  
 — — — связь с антибактериальным действием 234  
 Оксиамицин (Циклосерин) 196, 197  
 Оксиациллин 313  
 $\beta$ -Оксимасляная кислота 53  
 Оксимочевина 42  
 Оксин (8-Оксихинолин) 116, 162, 210, 264, 274  
 — антибактериальный спектр 290  
 — комплексы с железом 285, 287  
 — — с марганцем 302  
 — — с медью 287, 291  
 — «кооперативный эффект» 286  
 — механизм действия 281, 285  
 — применение 290  
 — трипаноцидное действие 289  
 Оксисома 31, 32  
 Окситетрациклин, см. Тетрациклины  
 Окситаминдифосфат 179  
 5-Окситриптамиин 77, 79, 91, 154, 159, 166  
 Оксофенарсин (Мафарсин) 104, 105, 304—308, см. также Мышьяк  
 Олевандомицин 47  
 Оливомидин 42, 110  
 Олигомицин 56  
 Олово, триалкил-соли 56  
 Онхоцеркоз 16  
 Опий 131  
 Оптохин 104, 105  
 Опухоль Беркита 192  
 Органеллы 370  
 Органические кислоты, см. Кислоты  
 Органические фосфаты, см. Фосфорсодержащие препараты  
 Основания, см. также Катионы  
 — ионизация 217  
 — сравнительная сила 220  
 Памаксин 90, 104, 105, 112  
 Пантотеновая кислота 196  
 Паразитические черви 17, 53, 54  
 Паракват 366  
 Паральдегид 134  
 Паравоксон 315, 318  
 Паратин 315, 318

- Парафуксин, см. Трифенилметановые красители
- Парацетамол 89
- Паркинсонизм 153
- Пектины 24
- Пемпиндид 146, 246
- Пенетамат (Эстопен) 22
- Пенициллиназа 22
- Пенициллины 122, 25, 109, 110, 202
- механизм действия 197, 308—315, 330
- Пентазоцин (Фортрал) 152
- Пентамидин 241, 242
- Пентобарбитал (Нембутал) 379
- Пентолдин 151, 156, 353
- Перекись водорода 328
- Перенос (транспорт) электрона клетками 55
- Пермеазы 74
- Петидин (Меперидин) 151, 152, 355, 356
- Пизатин 124
- Пикриновая кислота 165
- Пикротоксин 154
- Пилокарпин 349, 351
- Пиноцитоз 30, 75
- Пиперазин 113
- Пиперонилбутоксид 86, 124
- Пиретрины 79, 124, 158, см. также Инсектициды
- Пиридин-2-альдоксим (2-ПАМ) 319
- Пиридоксальфосфат 179
- Пиридоксин 180
- Пириметамин (Дараприм) 16, 112, 179, 192, 193, 195, 202, 251
- Пиримин 266, 267
- Пирролидиновые алкалоиды 324
- Питуитрин 14
- Плазма крови 81
- Плазмалемма 30
- Плазматическая мембрана 27—31, 363
- Полилизин 143
- Полиаминсы 110, 361
- Полипептиды 25, 361
- Полифенолоксидаза (Тирозиназа) 258
- Полиэлектролиты 221
- Порфирины 258, 265, 280, см. также Цитохромы, Гемоглобин, Миоглобин
- Порфириемия 323
- Почки 75, 77, 78
- Правило последовательности 333
- Превращения веществ, предшествующие их действию 88—94
- Примахин 90, 112, 204
- Принцип Фергюсона 370, 372—375
- Природные вещества, используемые как лекарственные 147
- Пробенецид (Бенемид) 86
- Прогуанил 90, 112, 193
- Прокаин 17
- Прокаин 147, 249
- Пролин и его антагонисты 325
- Пронтозил 88, 89, 92, 107
- Простагландины 177, 302
- Простейшие, см. также Амебы, Кокцидиоз, Лейшманиоз, Малярия, Трипаномоз
- метаболизм углеводов 53
- Протидий 112
- Профлавин 41, 125, 126, 239, 240
- Псевдоопиоиды 226, 227
- Перидины 187—194, 210, 265, 278, см. также Фолиевая кислота
- Пуromидин 47
- Путресцин 35
- Путь Эмбдена — Мейергофа 51—54
- Рак, см. также Канцерогенные вещества, Лейкоз, Лекарственные вещества противораковые
- резистентность 121, 125
- Растения высшие 53, 57
- Реакция Хилла 58, 260
- Резерпин 153, 154, 328
- Резистентность в условиях клиники 126
- Рецепторы 140, 141, 338
- влияние стерических факторов 210
- изотерма адсорбции 166, 167
- незанятые 140
- специфичность 134, 146, 331
- химическая природа 68—70
- Рианодин 115
- Рибит 313
- Рибонуклеаза 45, 174, 175, см. также Ферменты
- Рибонуклеиновая кислота (РНК) 34, 35, 38 — 41, 81, 143, 144, см. также Нуклеиновые кислоты
- РНК-полимеразы 233
- Рибосомы 33, 34, 39, 47, 49
- Риботиды 326
- Рибофлавин 166, 178, 190, 265
- Ристоцетин 314
- Ротенон 56, 115
- Ртуть 98, 268, 282
- механизм действия 74, 308
- Рутин 302
- Салициловая кислота (салицилаты) 132
- — ионизация 247, 252
- — хелатные комплексы 274, 284, 297
- — противовоспалительное действие 56
- Сальварсан, см. Арсенамин
- Сахароза, гидролиз 225
- «Сахароний»-катион 225
- Свинец 115, 283
- Свободные радикалы 365
- Сезамекс 86
- Селенит натрия 200
- Сера, фунгицид 116
- Серин 319, 333
- Серная кислота 20, 117
- Серотонин, см. 5-Окситриптамин
- Сидерамины 60, 267
- Сидеромины 61
- Силикоз 362
- Симазин 57, 119, 207
- Синаптические медиаторы 135, 338
- пузырьки 28, 136, 300
- щели 136
- Синапсы 134, 354
- адренергические 156
- периферические 146
- Синергизм 80, 85, 124, 202, 327
- Скотовные 131
- механизм действия 153, 370—381
- Соли, ионизация 216
- Спермидин и спермин 35, 265
- Спирохеты 106, 306, 307
- Споровики 243
- Степень ионизации, расчет 221
- Стерические факторы, влияние на растворимость 205



- Стероиды 81, 87, 144, 336, 337, см. также  
   Кортизон, Эстрогены  
 Стильбамидин 242  
 Стильбэстрол 211, 330, см. также Эстро-  
   гены  
 Стратодон 114  
 Стрептомицин 49, 110, 202  
   — резистентность 121, 126  
   — химиотерапевтическое действие 114, 116,  
     296, 363  
 Стрептомигрин 42  
 Стрихин 154  
 Структурные гены 143  
 Суксаметоний 150, 354, 374  
 Сукцинатдегидрогеназа 177, 183  
 Сукцинилхеримин 261, 364  
 Сукцинилсульфатазола 91, 187  
 Сульфадлазин 188, 189, 206  
 Сульфазомидин (Элкозин) 185  
 Сульфамидные препараты, антагонисты  
   107, 108, 113, 187—189  
   — — ацетилирование 96  
   — — механизм действия 184—190  
   — — применение в клинике 185  
   — — растворимость 206  
 Сульфатиазид 89, 185, 200  
 Сульфатиазол 186, 188  
 Сульфазуразол (Гантризин) 185  
 Сульфинипразол (Антуран) 246, 247  
 Сульфамиды, антибактериальное действие  
   104, 124, 125, 187  
 Сульфоновая группа 186  
 Сурамин 104, 105, 241—243  
 Сурма 104  
 Сывороточный альбумин, связывание ле-  
   карственных веществ 81  
  
**Такрин (9-Аминотетрагидроакридин)** 236  
 Талидомид 320  
 Тахифилаксия 141, 142  
 Тейхоевые кислоты 27  
 Тенуазоновая кислота 48  
 Теория оккупационная Арпенса 138, 139  
   — Стефенса 139  
 Терапевтическая интерференция 106, 127—  
   129, 203  
 Тестостерон 143  
 Тетрагидрофолевая кислота 192  
 Тетракаин (Аметокаин, Дедикаин) 148  
 Тетраметиламмоний 348  
 Тетраметилтурамдисульфид 92  
 Тетрахлорсалициланилид 363  
 Тетрахлорэтилен 113  
 Тетрациклин 48, 110, 274, 298, 299, 369  
 Тетраэтилпирофосфат 315, 318  
 Тетродотоксин 135, 155, 261  
 Тиabendазол 113, 201  
 Тиамин 161, 179, 203, 210  
 Тиаминаза 203  
 Тиаметазон 296  
 Тимин и тимидин 37, 188, 189, 326, 327  
 Тироктовая кислота 280, 293, см. также Ли-  
   поевая кислота  
 Тиоурацил 328  
 Тиофен 178  
 Тирамин 300  
 Тироксин 32, 144, 267, 300  
 Тиротрипин 110  
 Ткани животных, проницаемость 75  
 Токсины 284  
  
 Токсофильные группы 100  
 Токсоплазмоз 202  
 Тордон 118  
 Транквилизаторы 199  
 Трахома 16  
 Треталоза 53  
 Третамины 322  
 Триазины, гербициды 207  
 Триамтерен 194  
 Тридекаметоний 142  
 Трикарбонилметаны 350, 351  
 Трикарбоновые кислоты (Цикл Кребса)  
   31, 54, 55, 265  
 Триметоприм 193, 194, 202  
 Трипаномоз 17, 33, 64, 112, 119, 120, 241  
 Трипаноцидные средства 112, 227, 240,  
   243  
 Трипарсамид 104, 105, 308  
 Трипеленамин 199, 200  
 Триперидол 199  
 Трипсин 265  
 Триптамин 300  
 N-Тригилморфолин (Фрескон) 15  
 Тритоны, непонные эмульгаторы 363  
 Трихлорофон 317, 318  
 Трихомонады 112, 308  
 Триэтилхлорин 156  
 Туберкулез, см. Лекарственные вещества  
   противотуберкулезные  
 Туберидин 326  
 Тубокурарин 142, 146, 149, 246, 354  
  
 Углеводороды канцерогенные 212, 244  
 Углеводы, метаболизм 51  
   — оптическая изомерия 331, 332  
 Углерод четыреххлористый 367, 368  
 Уголь, адсорбент 167  
 Урацил 38, 39, 77, 325  
 Уридин 46  
 Уридинфосфаты 197, 312  
 Уротропин 89  
  
**Фаги (Бактериофаги)** 35, 36  
 Фагоцитоз 75  
 Фармакогенетика 204  
 Фармакодинамика 14, 16, 131—160  
 Фармакодинамические агенты, механизм  
   действия 134—144  
**Фенантридины** 235  
   — трипанодициды 112, 227, 240  
 o-Фенантролин, комплексы с металлами  
   274, 278, 281, 301  
 Фенацетин 89  
 Фенелзин 146, 198, 199  
 Фенециталлин 313  
 Фенилаланин и его антагонисты 178, 325  
 Фенилдарсеновые кислоты 88  
 Фенилбутазон (Бутазолидин) 87, 246, 247  
 Фенилмочевина 58  
 Фенилртуть 116  
 Фенилуксусные, кислоты 117  
 β-Фенилэтилгидразин (Фенелзин) 146, 195  
 Фенитоин (Дифенилгидантоин) 153, 380  
 Феноксикислоты 116, 117, 334  
 Фенобарбитал 379, 381  
 Фенолы 248, 250, 252, 359, 360  
 Фенолфталеин 67  
 Фенотиазины 20, 113, 368  
 Феноталамин 142  
 Феррам 116, 293

- Ферменты 45, 58, 59, 83, 84, 265  
 — активные центры 45, 174, 175  
 — влияние стерических факторов на активность 210  
 — восстановление 87, 143, 144  
 — выход через мембраны 75  
 — делеции при раке 321  
 — железосодержащие 60, 259  
 — индукция 122  
 Ферменты и рецепторы 69, 109, 133, 139  
 — ингибирование конкурентное 182, 202  
 — — лекарственными препаратами 176  
 — модели 174, 175  
 — порфириновые 259  
 — последовательное блокирование 201  
 — роль в метаболизме 173  
 — — металлов 264, 265  
 — сродство к ингибитору 181  
 Феромоны 15  
 Ферредоксин 259, 268  
 Ферриоксалин В 266, 267  
 Феррихромы 60, 284  
 Физиологическая константа связывания 275  
 Физиологические растворы 183  
 Физостигмин (Эзерин) 146, 151, 183  
 Филлиин 364  
 Филогенетическая классификация 18, 19  
 Филляриатозы 16, 113  
 Фолетовый Дебнера 212  
 Фитоалексины 125  
 Фитохром 61  
 Флеоминины 42  
 Флоризин 73  
 Флотация 172  
 Фолиевая кислота 36, 125, 265, 274, 278  
 — — антагонисты 184—194  
 — — ингибирование биосинтеза 187—189  
 Формальдегид 329  
 Фосфаты 51  
 Фосфаты 21, 265, см. также Аденозинфосфаты  
 Фосфоаргинин 51  
 Фосфоглюкомутаза 175  
 Фосфокреатин 51  
 Фосфолипиды 28—29  
 Фосфолипуваткиназа 305  
 Фосфор, метаболизм 51  
 Фосфорсодержащие препараты, применение в сельском хозяйстве и ветеринарии 80, 115, 124, 158, 315, 318, 319  
 Фосфофруктокиназа 59  
 Фотосинтез 57, 58  
 Фрамбезия 16  
 Фталилсульфатазол 187  
 Фтор, заместитель 178, 179, 324, 325  
 Фторуксусная кислота 324  
 Фузаровая кислота 283, 284  
 Фумаровая кислота 180  
 Фунгициды 56, 115—117, 248, 364  
 — антибиотические 49, 110  
 — применение в сельском хозяйстве 115—117  
 Хелатные комплексы состава 1:1 269  
 — — константы устойчивости 270, 271  
 — — потенциал 280  
 — — эффект распределения 282  
 Хелатообразование, влияние стерических факторов 210  
 Хелатообразующие агенты, механизм действия 281  
 — — специфичность 266  
 — — токсическое действие 281, 284  
 Химические связи 162—165  
 Химioterapevтический индекс 102  
 Химioterapia 98, 99  
 — п фармакодинамика 14  
 Химически инертные группы 205—215  
 Химия поверхностей 166, 167, 356—364, 372  
 α-Химотрипсин 45, 174, 175  
 Хиназолин 208, 209  
 Хинакрил 217  
 Хинапирамин (Антрицид) 112, 242, 243  
 Хинидин 160  
 Хинин 98, 244  
 Хиниоформ (Виноформ) 291  
 Хинуроний (Акаприн) 104  
 Хитин 25  
 Хлор 328  
 Хлорамбуцил 321  
 Хлорамин 328  
 Хлорамфеникол 45, 110, 122, 126  
 Хлоргексидин (Хибитан) 241, 363  
 Хлоралгидрат 89, 131  
 Хлордан 123  
 Хлорден 86  
 η-Хлор-м-ксиленол 360  
 Хлормеродин 74  
 Хлорноватистая кислота 328  
 Хлороксон 118  
 Хлоропласты 31—33  
 Хлорофилл 261  
 Хлороформ 248, 249  
 Хлорохин 113, 332  
 Хлорпромазин 153, 369  
 Хлоциклизин (Гистанин, Дипарален) 200  
 Хлорноэпителлома 192  
 Хром 260  
 Хроматин 35  
 Хромомицин 42, 110  
 Хромосомы 35, 80  
 Цвиттерионы 221, 222, 230  
 Целлюлоза, структура 24, 169  
 Центросома 35  
 Цереброспинальная жидкость 78  
 Церулоплазмин 258  
 Цетилтриметиламмонийбромид 241  
 Цефалоридин (Цепорин) 313  
 Цефалоспорины 110, 313  
 Цефалотин 313  
 Цианид-ион 55, 56, 279  
 Цианистый водород 281  
 Цикл Кребса, см. Трикарбоновые кислоты  
 Циклоадениловая кислота 339  
 Циклогексан 328, 337  
 Циклогексимида (Актидион), фунгицид 49, 50, 117  
 Циклоуанил (Камолар) 91  
 Циклодекстрины (Циклоамилазы) 174  
 Циклосерин (Оксамицин) 110, 196, 197  
 Циклофосфамид (Цитоксан, Эндоксан) 322, 323  
 Цинк 117  
 Цинк 45, 260, 262, 270, 274, 277  
 Цирам (Церлат) 116, 293  
 Цирконий 284  
 Цистеамин 283, 284

- Цистенин, комплексы с металлами 264, 270, 274 ~  
Цитозин 39, 40, 41, 327  
Цитология 22, 24, 31, 34, 35  
Цитохромы 31, 55, 60, 84  
Цитроворум-фактор 194
- Число Авогадро 263
- Шизонты 243, 244  
Шикимовая кислота 50  
Шистосоматоз (Бильгарциоз), химиотерапия 16, 59, 104, 113, 114, 215  
Шиффовы основания 214  
Шрадан 80, 318
- Щавелевая кислота 269, 270  
Щитовидная железа 21, 177, 179
- Эзерин, см. Физостигмин  
Экдизон 62, 144  
Экзоалкилирующие агенты 203  
Эметин 104, 105, 113  
Эмодин 89  
Энантиоморфные изомеры (антиподы) 331  
Эндоалкилирующие агенты 203
- Эндоплазматическая сеть 31, 83  
Энцефаломелит, возбудители 282  
Эпинефрин см. Адреналин  
Эпинин 332  
Эрготамин 142  
Эритромицин 47, 110  
Эритроциты 71, 73, 77, 244  
Эрлих, вклад в химиотерапию 99  
Эстрадиол 143  
Эстрогены 143, 330, 338  
Этамбутол 296  
Этидий 112  
Этиден-бис-дитиокарбаматы 92, 117  
Этилендиамин 269, 274, 279  
Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) 274, 280, 282, 283  
Этилмеркаптан 91  
Этиловый спирт 153, 177, 375  
Этионин 197  
Этоксихолин 350  
Эфедрин 142, 156  
Эфир диэтиловый 437—442  
Эффект концентрации, обращение 285
- Ювенильный гормон 62, 63
- Янтарная кислота 177

## Оглавление

Предисловие к русскому изданию . . . . .	5
Предисловие автора к русскому изданию . . . . .	6
Предисловие автора к английскому изданию . . . . .	7

### Часть первая. Общие проблемы

<b>Глава 1.</b> Токсичность на службе человека . . . . .	13
Что такое «избирательная токсичность»? . . . . .	13
1. Теоретические основы избирательности . . . . .	17
2. Избирательность за счет различий в распределении . . . . .	20
3. Цитологические различия как основа избирательности . . . . .	22
4. Биохимические различия как основа избирательности . . . . .	37
5. Заключение . . . . .	65
<b>Глава 2.</b> Всасывание, распределение в организме и выведение . . . . .	66
Введение . . . . .	66
1. Концепция рецепторов . . . . .	68
2. Проницаемость природных мембран . . . . .	70
3. «Места потерь» и синергизм . . . . .	80
4. Превращения веществ, предшествующие их действию . . . . .	88
5. Обратимость взаимодействия с рецепторами . . . . .	94
6. Количественные аспекты распределения . . . . .	95
<b>Глава 3.</b> Химиотерапия; история и основные принципы . . . . .	98
Введение и исторический обзор . . . . .	98
1. Вклад Эрлиха в химиотерапию . . . . .	99
2. Химиотерапевтические средства, существовавшие до 1935 г. . . . .	103
3. 1935-й и последующие годы . . . . .	107
4. История изыскания инсектицидов и средств защиты урожая . . . . .	114
5. Устойчивость к лекарственным веществам и другим агентам . . . . .	120
6. Терапевтическая интерференция . . . . .	127
<b>Глава 4.</b> Фармакодинамика . . . . .	130
Введение. Сравнительная характеристика фармакодинамики и химиотерапии . . . . .	130
1. История развития исследований по изысканию новых синтетических лекарственных средств . . . . .	131
2. Значение количественных оценок . . . . .	132
3. Гипотезы механизма действия лекарственных препаратов . . . . .	134
4. Некоторые общие особенности молекулярной структуры фармакодинамических лекарственных средств . . . . .	144
5. Модификация природных соединений с целью получения более простых производных . . . . .	147
6. Классификация фармакодинамических агентов . . . . .	153

### Часть вторая. Связь между структурой и биологической активностью

<b>Глава 5.</b> Химические основы избирательности. Природа связей. Адсорбция . . . . .	161
Введение . . . . .	161
1. Типы химической связи . . . . .	162
2. Адсорбция . . . . .	166
3. Некоторые небιологические примеры химической специфичности . . . . .	169
4. Эксперименты, иллюстрирующие явления избирательной адсорбции . . . . .	171
<b>Глава 6.</b> Метаболиты, антиметаболиты и ферменты . . . . .	173
Введение . . . . .	173
1. Аналоги метаболитов; определение, способы получения и механизм действия . . . . .	176
2. К истории изучения антиметаболитов до 1940 г. . . . .	183
3. Сульфамидные препараты и другие антагонисты фолиевой кислоты . . . . .	184
4. Другие аналоги метаболитов, обладающие выраженной избирательной токсичностью . . . . .	194
5. Последовательное блокирование . . . . .	201
6. Аналоги метаболитов, образующие ковалентные связи . . . . .	202

7. Антагонисты метаболитов, которые не являются их аналогами . . .	203
8. Фармакогенетика . . .	204
<b>Глава 7. Влияние метильных групп на биологическое действие . . .</b>	<b>205</b>
Введение . . .	205
1. Влияние стерических факторов . . .	205
2. Электрические влияния . . .	211
<b>Глава 8. Ионизация . . .</b>	<b>216</b>
Введение . . .	216
1. Природа ионизации . . .	216
2. Различия в степени ионизации и избирательное действие . . .	223
3. Вещества, обладающие большей биологической активностью в ионизованном состоянии . . .	228
4. Вещества, менее активные в ионизованном состоянии . . .	247
5. Вещества, в биологическом действии которых принимают участие ионы, и молекулы . . .	249
6. Ионизация рецепторов . . .	254
7. Заключение . . .	255
<b>Глава 9. Вещества, связывающие металлы . . .</b>	<b>257</b>
Введение . . .	257
1. Металлы в живой клетке . . .	257
2. Биохимические различия, способствующие избирательности . . .	264
3. Химизм хелатообразования . . .	268
4. Химические различия, способствующие избирательности . . .	276
5. Различные механизмы биологического действия хелатообразующих агентов (введение) . . .	280
6. Уменьшение токсического действия металла в результате хелатообразования . . .	282
7. Усиление токсического эффекта металла в результате хелатообразования . . .	284
8. Хелатообразующие вещества, биологическое действие которых обусловлено не только хелатообразованием . . .	294
9. Основные принципы изыскания новых хелатообразующих соединений. Перспективные области применения . . .	301
<b>Глава 10. Ковалентная связь и избирательная токсичность . . .</b>	<b>303</b>
Введение . . .	303
1. Производные мышьяка, сурьмы и ртути . . .	303
2. Пенициллин и другие соединения с тем же типом действия . . .	308
3. Органические фосфаты и карбаматы . . .	315
4. Алкилирующие агенты . . .	320
5. Летальный синтез и летальное включение . . .	324
6. Разные примеры . . .	328
<b>Глава 11. Стерические факторы . . .</b>	<b>329</b>
Введение . . .	329
1. Оптическая изомерия . . .	331
2. Геометрическая изомерия . . .	334
3. Конформация . . .	336
4. Лекарственные вещества и их рецепторы . . .	338
5. Заключение . . .	356
<b>Глава 12. Химия поверхностных явлений. Изменения в мембранах под действием химических агентов . . .</b>	<b>357</b>
Введение . . .	357
1. Поверхностные явления и биологическая активность . . .	358
2. Повреждение мембран биологически активными агентами . . .	360
<b>Глава 13. Свободные радикалы . . .</b>	<b>365</b>
Введение . . .	365
1. Свободные радикалы и избирательно токсичные агенты . . .	366
<b>Глава 14. Биологическая активность, не связанная со структурой. Принцип Фергюсона . . .</b>	<b>370</b>
Введение . . .	370
1. Биологические депрессанты (спотворные и наркотические средства, летучие инсектициды) . . .	370
2. Соединения, нарушающие нормальный ход митоза . . .	381
3. Порошкообразные вещества, обладающие сорбтивными свойствами . . .	381
<b>Литература . . .</b>	<b>391</b>
<b>Предметный указатель . . .</b>	<b>420</b>

УВАЖАЕМЫЙ ЧИТАТЕЛЬ

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва, И-110, ГСП, 1-й Рижский пер., дом 2, изд-во «Мир».

# **Опечатки**

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
294	35 снизу	0,002 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	0,002 ч. на млн
294	37 снизу	0,01 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	0,01 ч. на млн

Зак. 960

Sp. 85 n.





# ИЗДАНИЕ ТРЕТЬЕ

## ТОКЦИНО ОУП